HEMATOLOGÍA CLÍNICA

J. Sans-Sabrafen
C. Besses Raebel
J.L. Vives Corrons

QUINTA EDICIÓN

ELSEVIER

HEMATOLOGÍA CLÍNICA

Es una publicación

ELSEVIER

© MMVI Elsevier España, S.A.
Infanta Mercedes, 90 - 7.ª pl.
28020 Madrid. España

An Elsevier Imprint

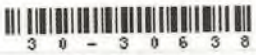
Primera edición	1982
Segunda edición	1988
Tercera edición	1994
Cuarta edición	2001

Fotocopiar es un delito (Art. 270 C.P.)
Para que existan libros es necesario el trabajo de un importante colectivo (autores, traductores, dibujantes, correctores, impresores, editores...). El principal beneficiario de ese esfuerzo es el lector que aprovecha su contenido. Quien fotocopia un libro, en las circunstancias previstas por la ley, delinque y contribuye a la «no» existencia de nuevas ediciones. Además, a corto plazo, encarece el precio de las ya existentes.
Este libro está legalmente protegido por los derechos de propiedad intelectual. Cualquier uso, fuera de los límites establecidos por la legislación vigente, sin el consentimiento del editor, es ilegal. Esto se aplica en particular a la reproducción, fotocopia, traducción, grabación o cualquier otro sistema de recuperación de almacenaje de información.

Coordinación y producción editorial: EDIDE, S.L.

ISBN: 978-84-8174-779-9

Depósito legal: M-25.973-2007



Impreso en España por Gráficas Muriel, S.A.

ADVERTENCIA

La medicina es un área en constante evolución. Aunque deben seguirse unas precauciones de seguridad estándar, a medida que aumenten nuestros conocimientos gracias a la investigación básica y clínica habrá que introducir cambios en los tratamientos y en los fármacos. En consecuencia, se recomienda a los lectores que analicen los últimos datos aportados por los fabricantes sobre cada fármaco para comprobar la dosis recomendada, la vía y duración de la administración y las contraindicaciones. Es responsabilidad ineludible del médico determinar las dosis y el tratamiento más indicado para cada paciente, en función de su experiencia y del conocimiento de cada caso concreto. Ni los editores ni los directores asumen responsabilidad alguna por los daños que pudieran generarse a personas o propiedades como consecuencia del contenido de esta obra.

EL EDITOR

Índice de capítulos

CAPÍTULO 1
Hematopoyesis. Morfología de los elementos formes de la sangre y órganos hematopoyéticos 1
L. Florensa y S. Woessner

CAPÍTULO 2
Diagnóstico biológico de las hemopatías: citoquímica, inmunofenotipo, cultivos celulares *in vitro*, ultraestructura y biopsia medular. 33
S. Woessner, L. Florensa y E. Pérez Vila

CAPÍTULO 3
Diagnóstico biológico de las hemopatías: citogenética y biología molecular. 49
B. Espinet, B. Bellosillo y F. Solé

CAPÍTULO 4
Introducción al estudio de la patología eritrocitaria. 81
J. L. Vives Corrons

CAPÍTULO 5
La anemia. Aspectos generales del diagnóstico 107
J. L. Vives Corrons

CAPÍTULO 6
Anemia ferropénica y trastornos del metabolismo del hierro 127
J. L. Vives Corrons y A. Altès

CAPÍTULO 7
Anemia megaloblástica y otras causas de macrocitosis 163
J. L. Vives Corrons

CAPÍTULO 8
Anemias hemolíticas. Aspectos generales. Anemias hemolíticas hereditarias 187
J. L. Vives Corrons

CAPÍTULO 9
Hemoglobinopatías estructurales 223
J. L. Vives Corrons

CAPÍTULO 10
Talasemias y síndromes talasémicos 247
J. L. Vives Corrons

CAPÍTULO 11
Anemias hemolíticas adquiridas 273
J. L. Vives Corrons

CAPÍTULO 12
Introducción al concepto y nosología de las mielopatías primarias. Semiología de la dishemopoyesis 299
J. Sans-Sabrafen y S. Woessner

CAPÍTULO 13
Síndromes mielodisplásicos. Síndromes mielodisplásicos/síndromes mieloproliferativos.
Anemias diseritropoyéticas congénitas. Tratamiento de los síndromes mielodisplásicos 307
J. Sans-Sabrafen, S. Woessner y C. Besses

CAPÍTULO 14
Aplasia medular. Eritroblastopenias. Amegacariocitosis. 329
P. Marín

CAPÍTULO 15
Neutropenias y agranulocitosis 341
M. Giralt

CAPÍTULO 16
Síndromes mieloproliferativos crónicos. Policitemia vera y trombocitemia esencial 355
C. Besses y J. Sans-Sabrafen

CAPÍTULO 17
Síndromes mieloproliferativos crónicos. Leucemia mieloide crónica. Metaplasia mieloide agnogénica 377
F. Cervantes

CAPÍTULO 18
Funcionalismo leucocitario. Granulocitopatías funcionales. Anomalías constitucionales de los leucocitos 393
J. J. Ortega

CAPÍTULO 19
Introducción al estudio de las leucemias agudas. Clasificación.
Descripción de las distintas variedades. Formas especiales 409
L. Florensa, E. Pérez-Vila y S. Woessner

CAPÍTULO 20
Leucemias agudas infantiles 437
J. J. Ortega

CAPÍTULO 21
Tratamiento de la leucemia aguda linfoblástica del adulto 451
J. M.ª Ribera

CAPÍTULO 22
Tratamiento de la leucemia mieloide aguda del adulto 461
J. Sierra

CAPÍTULO 23
Síndromes linfoproliferativos crónicos con expresión hemoperiférica no LLC 475
A. Orfao y J. F. San Miguel

CAPÍTULO 24
Leucemia linfática crónica 491
E. Montserrat

CAPÍTULO 25
Linfomas no hodgkinianos. Bases citoevolutivas y funcionales.
Clasificación y descripción de sus distintas variedades 501
S. Serrano, C. Besses y D. Domínguez

CAPÍTULO 26
Linfomas extraganglionares primarios 537
A. Salar, J. Sans-Sabrafen y C. Besses

CAPÍTULO 27
Linfomas no hodgkinianos: estudio de extensión, factores pronósticos y tratamiento 555
A. Salar y C. Besses

CAPÍTULO 28
Linfoma de Hodgkin 579
A. Sureda

CAPÍTULO 29
Patología del sistema mononuclear fagocítico. Histiocitosis de células de Langerhans.
Síndromes hemofagocíticos. Síndromes histiocíticos malignos. Histiocitosis acumulativas 607
E. Feliu, B. Xicoy y J. M.ª Ribera

CAPÍTULO 30
Gammapatías monoclonales. Clasificación. Métodos de detección.
Gammapatía monoclonal de significado incierto. Amiloidosis primaria 623
C. Besses y J. Sans-Sabrafen

CAPÍTULO 31
Mieloma múltiple 635
J. Bladé y L. Rosiñol

CAPÍTULO 32
Macroglobulinemia de Waldenström. Enfermedades de las cadenas pesadas. Crioglobulinemias monoclonales 651
J. Bladé y M.ª T. Cibeira

CAPÍTULO 33
Fisiología y exploración de la hemostasia 659
J. Mateo, A. Santamaría y J. Fontcuberta

CAPÍTULO 34
Trombocitopenias y trombocitopatías 683
N. Pujol-Moix, E. Muñiz y C. Besses

CAPÍTULO 35
Coagulopatías plasmáticas congénitas 725
J. Monteagudo, C. Sedano y R. Pérez Montes

CAPÍTULO 36
Hipocoagulabilidades adquiridas. Síndrome de la coagulación intravascular diseminada.
Deficiencias complejas de la hemostasia 745
F. Martínez Brotons y P. Domènech

CAPÍTULO 37
Trombosis e hipercoagulabilidad 757
J. Mateo, A. Santamaría y J. Fontcuberta

CAPÍTULO 38
Terapéutica antitrombótica 769
F. Martínez Brotons

CAPÍTULO 39
Trasplante de progenitores hematopoyéticos 789
E. Carreras y C. Rozman

CAPÍTULO 40
Inmunohematología y transfusión sanguínea en hematología clínica 809
R. Mazzara, M. Lozano y J. Martorell

CAPÍTULO 41
Aspectos hematológicos en medicina interna. 839
E. Abella, C. Pedro y R. Salinas

CAPÍTULO 42
La formación en hematología y hemoterapia 863
J. García-Conde

ANEXO 1
Medicamentos que pueden producir leucopenia (Septiembre 2004) 873

ANEXO 2
Medicamentos que pueden producir agranulocitosis (Septiembre 2004) 875

CAPÍTULO 1

Hematopoyesis. Morfología de los elementos formes de la sangre y órganos hematopoyéticos

L. Florensa y S. Woessner

ÍNDICE

Introducción
Sistema hematopoyético
Células hematopoyéticas
Regulación de la hematopoyesis
Factores de crecimiento hematopoyéticos
Acción de los factores de crecimiento en los progenitores hematopoyéticos
Factores inhibidores de la hematopoyesis
Apoptosis
Estroma celular
Células de la estroma medular
Moléculas de adhesión celular
Características de las células que integran el compartimento de maduración y diferenciación hematopoyético y de la matriz ósea
Mielopoyesis
Serie eritroblástica
Serie granulopoyética
Serie monocítica
Serie megacariocítica plaquetaria
Células de la matriz ósea
Linfopoyesis
Sistema linfoide
Poblaciones linfocitarias y su caracterización
Bibliografía

INTRODUCCIÓN

La hematopoyesis es el mecanismo fisiológico responsable de la formación continuada de los distintos tipos de elementos formes sanguíneos, que los mantiene dentro de los límites de la normalidad en la sangre periférica.

En los mamíferos, durante la etapa embrionaria y fetal, el sistema hematopoyético se desarrolla en diferentes localizaciones anatómicas. Al comienzo, es un fenómeno extraembrionario, para acabar asentándose dentro del embrión, primero en el hígado y en el bazo y, después, definitivamente, en la médula ósea[1].

Alrededor de la tercera semana de gestación, se desarrolla la hematopoyesis extraembrionaria. Las células madre hematopoyéticas se forman a partir de las células mesenquimales del saco vitelino. En este período, la hematopoyesis se caracteriza por quedar restringida a la serie eritroide.

La hematopoyesis hepática se desarrolla a partir de la sexta semana y hasta el nacimiento. En el hígado, a pesar de que la eritropoyesis continúa predominando, pueden detectarse elementos de las líneas granulocítica y megacariocítica. La actividad hematopoyética del hígado disminuye gradualmente en los dos últimos meses de la vida intrauterina, y en el momento del nacimiento sólo quedan pequeños islotes hematopoyéticos. La hematopoyesis esplénica se desarrolla en el mismo período que la hepática, aunque su contribución es menor; no obstante, ambos órganos son importantes para el desarrollo de la linfopoyesis.

A partir de la onceava semana de la gestación, se instaura la hematopoyesis medular, que es el órgano hematopoyético definitivo. Durante los dos primeros años de vida, la médula ósea activa (médula roja) se localiza en todos los huesos y, gradualmente, es reemplazada por tejido medular inactivo (médula amarilla o grasa). Este proceso se inicia en las diáfisis de los huesos largos y, en los adultos jóvenes, la médula roja se localiza en las epífisis de los huesos largos, el esternón, las costillas, el cráneo, las vértebras y la pelvis. La expansión del tejido hematopoyético finaliza en la infancia. En situaciones de necesidad de incremento de la hematopo-

yesis, se produce una expansión de la médula roja hacia la médula grasa, incluso en localizaciones extramedulares, como el bazo y el hígado, por la migración de células madre desde la médula ósea a través de la sangre periférica.

En el adulto, la hematopoyesis se desarrolla en la médula ósea, debido a su capacidad de permitir el anidamiento, el crecimiento y la diferenciación de las células germinales hematopoyéticas. Éstas hallan en la médula ósea el lecho y el microambiente adecuados para su desarrollo y diferenciación hacia células maduras.

El microambiente medular engloba un conjunto de sustancias químicas, hormonales y diversos tipos celulares (células endoteliales, linfocitos T, macrófagos, células reticulares y adipocitos), entre otros varios factores menos conocidos. Cada tipo celular se desarrolla en un ambiente específico de la médula, denominado *nicho*, que está formado por elementos del microambiente que, además de intervenir en el proceso de diferenciación celular, ofrecen a la célula soporte físico y punto de adhesión[2-4].

La médula ósea puede considerarse como un tejido blando contenido en un estuche óseo que cede las células hematopoyéticas más maduras a la circulación según una pauta adecuada. La mayoría de estas células completan su maduración en el árbol vascular o en los tejidos.

El tejido hematopoyético se sitúa en los espacios extravasculares, entre los senos, donde los distintos tipos celulares adoptan una distribución topográfica muy constante[2], en función de su capacidad de desplazamiento (fig. 1.1). Así, los eritroblastos tienden a acumularse cerca del sinusoide y se agrupan en islotes alrededor de los macrófagos y, éstos, a modo de células nodriza, proporcionan ferritina a los eritroblastos, que la incorporan por el mecanismo de rofeocitosis. La granulopoyesis se desarrolla en la parte más central de los espacios intersinusoidales; sin embargo, a causa de la capacidad de movilización que adquieren a medida que maduran, los granulocitos pueden dirigirse hacia la proximidad del endotelio sinusoidal, que finalmente atraviesan para pasar a la circulación sistémica. Las células linfoides no presentan una ubicación precisa y, por lo general, se distribuyen de manera irregular por todo el tejido hematopoyético, aunque en ocasiones, se agrupan y constituyen los folículos linfoides, una minoría de los cuales (5%) puede contener incluso un centro germinal. Los megacariocitos se localizan en la proximidad de los sinusoides de la médula ósea, cuya pared endotelial está atravesada por fragmentos de citoplasma megacariocítico; así, mediante este paso transendotelial, alcanzan la luz sinusoidal y la circulación general. Dichos fragmentos citoplasmáticos se denominan *proplaquetas*. La segmentación de las proplaquetas se produce en la circulación general y, sobre todo, en la pulmonar. También puede ser que el megacariocito entero atraviese la barrera medular y pase a la circulación, de forma que quede retenido en los pulmones, donde complementa su desarrollo. Actualmente, los megacariocitos se consideran un componente normal de la sangre; una cifra de 10 megacariocitos/mL de sangre periférica es un valor aceptable para un adulto. Los megacariocitos pueden hallarse esporádicamente en otros tejidos, como hígado, bazo, riñón y corazón, sin que este hallazgo indique necesariamente metaplasia mieloide.

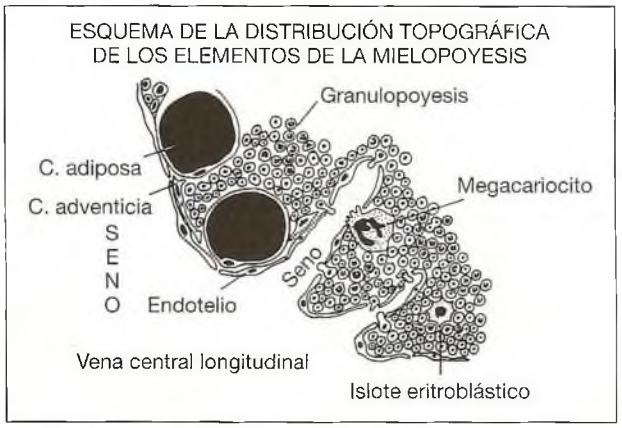


Figura 1.1. Esquema anatómico indicando la topografía de los distintos compartimentos celulares de la médula ósea.

Las células hematopoyéticas diferenciadas pasan desde los cordones medulares hacia la circulación en los senos, que se comunican con los capilares intracorticales y drenan hacia la vena central. Los senos corticales poseen una pared muy fina, constituida por endotelio, membrana basal y capa adventicia. Las células endoteliales están íntimamente unidas entre ellas mediante complejos de unión (desmosomas), por lo que, a diferencia de lo que sucede en los sinusoides esplénicos, las células sanguíneas deben producir, en su paso de salida, aperturas en las células endoteliales, las cuales tienen un diámetro inferior a la mitad del de la célula que debe atravesar la barrera endotelial. Además del endotelio, la pared sinusoidal tiene una capa adventicia incompleta que modula la intensidad de paso de las células medulares a la circulación, permitiendo el paso sólo a las células hemáticas que han adquirido suficiente madurez. En ciertas hemopatías por lesión de la arquitectura de la pared sinusoidal, consiguen escaparse células hematopoyéticas inmaduras a la circulación general (diabasia alterada).

SISTEMA HEMATOPOYÉTICO

En la médula ósea pueden distinguirse las células hematopoyéticas propiamente dichas de los elementos celulares de la estroma, que incluyen las células endoteliales vasculares y las reticulares. Estas últimas, con sus prolongaciones fibrosas, constituyen el armazón sobre el que se sitúan las células hematopoyéticas.

Células hematopoyéticas

Entre las células hematopoyéticas, las correspondientes al estadio más diferenciado de la hematopoyesis son reconocibles con el microscopio óptico y se denominan *precursores hematopoyéticos*, mientras que las células más inmaduras, o *progenitores*, no son reconocibles mediante técnicas microscópicas debido a que no poseen distintivos morfológicos precisos. Se trata de células mononucleadas pequeñas, agranulares, semejantes a pequeñas células linfoides, cuya cuantificación se cifra en una por cada 2.000 elementos medulares nucleados (0,05%)[5,6]. Estas células pueden estudiarse mediante técnicas de cultivo *in vitro*, la marcación de sus antígenos de diferenciación con anticuerpos monoclonales y con el estudio de la efusión de colorantes fluorescentes tipo rhodamina-123Rho y Hoescht 33342[7,8]. Con la ayuda de estas técnicas, actualmente se sabe que en el hombre existe una célula con capacidad de proliferación, diferenciación y autorrenovación, atributos que definen a la célula madre pluripotente o *stem cell*. Es la denominada CFU-LM o célula madre linfomieloide, conocida

también con las siglas CFU-GEMMegL, debido a su capacidad para producir *in vitro* colonias constituidas por granulocitos, eritrocitos, monocitos, osteoclastos, megacariocitos y linfocitos T y B[5-9]. A partir de la CFU-LM (fig. 1.2), sinónimo de la CFU-S o célula formadora de colonias esplénicas en el ratón, aparecen la célula germinal linfoide (CFU-L) y la célula germinal mieloide (CFU-M o CFU-Mix).

La célula germinal pluripotente mieloide, estimulada por el microambiente, da lugar a otras poblaciones comprometidas hacia la diferenciación de una o varias de las líneas mieloides, que pueden ser monopotentes, bipotentes o tripotentes[5-13]. Estas células se denominan células formadoras de colonias (CFC) o unidad formadora de colonias (CFU), de las que se conocen distintos tipos: BFU-E, CFU-E para la línea eritroide, CFC-GM, CFC-G y CFC-M para la granulomonocítica, CFC-Oe para los osteoclastos, CFC-Eo para los eosinófilos, CFC-Ba para los basófilos y BFU-Meg y CFU-Meg para los megacariocitos[9,12,13]. La BFU-E y la CFU-Meg comparten un progenitor común[11,12]. El compartimento de las células progenitoras es el más importante dentro del sistema hematopoyético, ya que es el responsable de la reconstitución hematopoyética cuando sufre una lesión citotóxica grave (irradiaciones o quimioterapia) y después de un trasplante de médula ósea.

Recientemente, se ha introducido el concepto de potencialidad y plasticidad o transdiferenciación de las células madre hematopoyéticas[8,14,15]. Basándose en la etapa del desarrollo humano, se reconocen dos tipos de células madre: las embrionarias y las células madre adultas. Las primeras derivan de la masa celular interna del blastocito, y cumplen todos los criterios de una célula madre pluripotente: autorrenovación, diferenciación hacia todas las líneas germinales (ectodermo, mesodermo, cresta neural y endodermo) y mantenimiento a lo largo de toda la vida de un individuo. Las células madre adultas, entre ellas las células madre hematopoyéticas, están restringidas a un órgano o tejido específico, y tienen capacidad para proliferar y diferenciarse hacia los diversos tipos de células del tejido al que pertenecen. Sin embargo, recientemente se han obtenido datos que rompen el dogma de que una célula madre adulta está restringida al órgano en el que se aloja. Así, se ha observado que las células madre hematopoyéticas, además de producir y mantener las células de la sangre, tienen capacidad, bajo determinadas condiciones, de generar células funcionalmente activas de otros tejidos no hematopoyéticos, como hueso, cartílago, músculo, piel, hígado, pulmón, corazón, células epiteliales, endotelio de los vasos sanguíneos, células neuronales, etc. Basándose en estos datos, se ha sugerido que las células madre hematopoyéticas pueden dar lugar a células de todas las líneas somáticas (ectodermo, mesodermo, cresta neural y endodermo). A esta capacidad de conversión de una célula

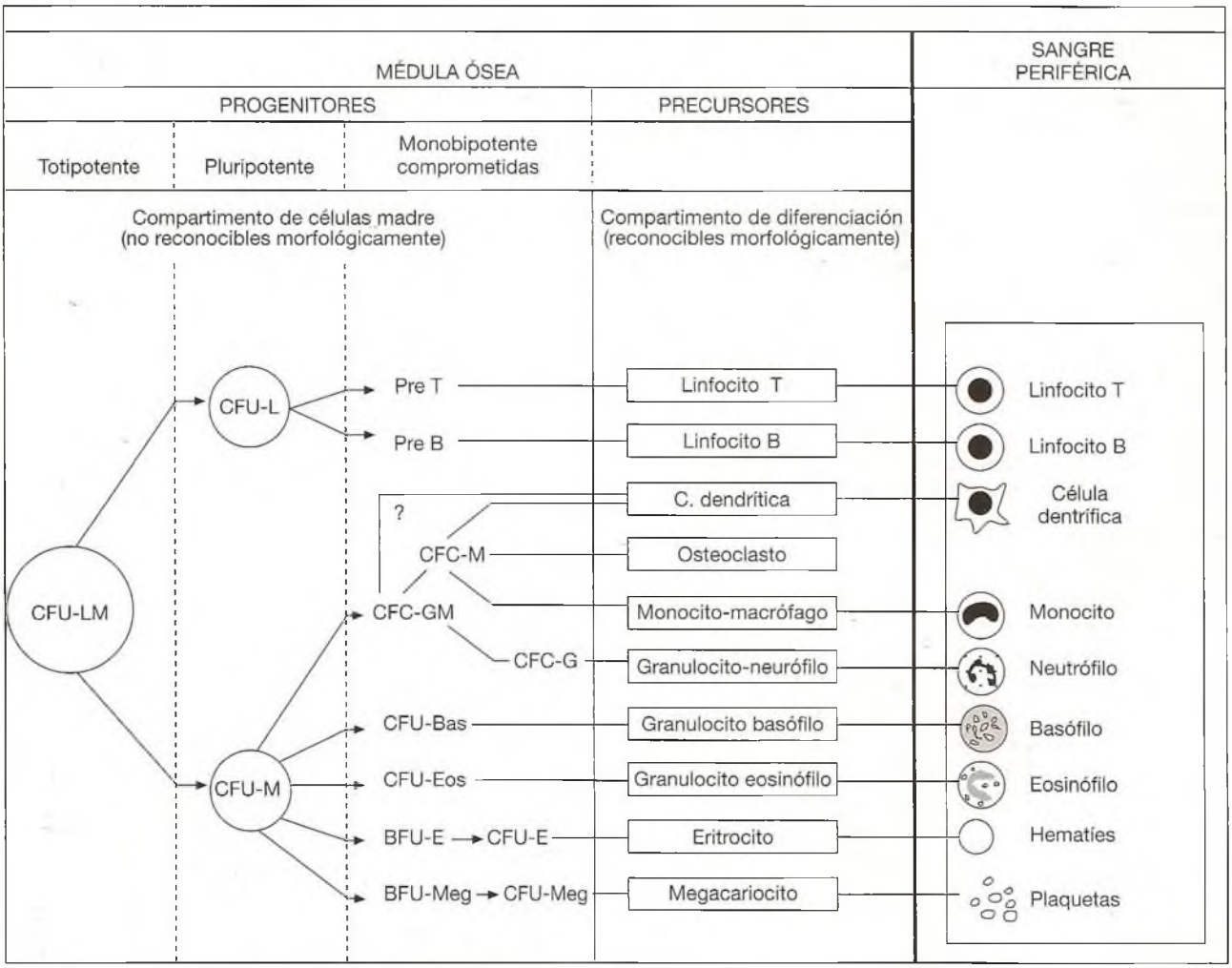


Figura 1.2. Esquema de la hematopoyesis humana (v. el texto).

de un linaje tisular en otra de un tejido completamente distinto, con pérdida de marcadores y funciones del tejido original, y adquisición de las del tejido al que se ha transdiferenciado, se la conoce como plasticidad o transdiferenciación de las células madre[8,14,15]. Además de las células madre hematopoyéticas, se han definido otros tres tipos de células madre situadas en tejidos que generan células hematopoyéticas[14]. Son: el *hemangioblasto*, precursor con capacidad para formar células hematopoyéticas y células del endotelio de los vasos; las *células madre mesenquimales*, con capacidad para generar cartílago, hueso, adipocitos, células neuronales, células de la estroma hematopoyética, músculo, etc. y las *células progenitoras adultas multipotentes* o MAPC, que generan todas o la mayoría de las líneas celulares de origen ectodérmico, endodérmico y mesodérmico. Estos nuevos conocimientos han abierto un amplio campo en la investigación de las células madre, con nuevas posibilidades de aplicación en la medicina reparativa y en la terapia génica[8,14,15].

Como ya se ha mencionado, las células hematopoyéticas inmaduras no poseen distintivos morfológicos que permitan diferenciarlas. En la actualidad, por medio de análisis fenotípico con marcadores de superficie se pueden identificar los distintos progenitores mieloides. Las células progenitoras están englobadas dentro de una pequeña población medular muy heterogénea, que se caracteriza por presentar el antígeno CD34 y, débilmente, el CD45. Entre estas células CD34, se han identificado varios progenitores en diferentes estadios madurativos. Uno de ellos es la célula CD34 positiva, CD38 negativa, sin expresión HLA-DR, que se identifica como la célula madre común totipotente o tronco, con capacidad para dar lugar al progenitor pluripotente. Al analizar la efusión de colorantes, tipo rhodamina-123Rho y Hoescht 33342, se ha identificado una subpoblación de progenitores primitivos que se diferencian de los más maduros por no presentar efusión de rhodamina-123Rho y Hoescht 33342[7]. La diferenciación de estas células va asociada a la pérdida de CD34 y al inicio de la expresión de otros antígenos característicos de estadios de diferenciación más avanzados. La célula progenitora pluripotente mieloide (CFU-GEMM) expresa junto al CD34, el HLA-DR, adquiere el CD38 y es positiva para el CD33. Cuando presenta compromiso hacia la línea granulomonocítica y pasa a CFC-GM, además del CD33 y del CD34, expresa el CD13, antígeno que conserva durante toda su evolución a granulocito maduro, por lo que se le considera como marcador de línea. La línea monocítica tiene como marcador el CD14. Los progenitores eritroides BFU-E y CFU-E comparten el CD33 y el CD34, así como la glicoforina C. La glicoforina A se adquiere en estadios más avanzados. Ambas glicoforinas se conservan durante la evolución madurativa hacia el hematíe[12,16-18].

Los progenitores megacariocíticos CFU-Meg comparten el CD33 y el CD34 con el CD61 y el CD41, que se expresan durante toda su maduración. El promegacarioblasto adquiere un nuevo antígeno, el CD42, que junto a los otros dos permite identificar la línea megacariocítica. El antígeno HLA-DR se halla en estadios muy tempranos de la célula granulomonoeritromegacariocítica, y desaparece en estadios tempranos de diferenciación, excepto en la serie monocito-macrófago, en la que permanece hasta los elementos maduros. Por otra parte, dentro de las células más indiferenciadas se ha podido separar un grupo celular que presenta, además de los antígenos CD34 y CD33, el antígeno *c-kit* o receptor para el FEC-1, que se identifica con el CD117 (fig. 1.3)[16-18].

REGULACIÓN DE LA HEMATOPOYESIS

En el hombre adulto, la hematopoyesis normal se desarrolla en la médula ósea, y está regulada por mecanismos de gran complejidad, en los que las células hematopoyéticas interaccionan entre sí, con su microambiente, con factores de crecimiento y con la matriz extracelular. Estas interacciones coordinan la función de la célula y, para ello, requieren un amplio número de receptores en la superficie celular, altamente especializados, que intervienen en la adhesión celular, así como en la transmisión de señales procedentes de otras células, de los factores de crecimiento y de la matriz extracelular. El control que ejerce el microambiente en la regulación de la hematopoyesis se considera más importante para el compartimento de células madre que para el resto de células más maduras[4,19].

Por otra parte, las células medulares secretan unas glucoproteínas denominadas *factores de crecimiento*, que son indispensables para el desarrollo de las células hematopoyéticas. Su acción puede recaer sobre la proliferación, maduración y función celular. Entre los factores de crecimiento existe un grupo denominado «factores de supervivencia» que son responsables de mantener la viabilidad y la supervivencia de las células madre. Estos factores por ellos mismos no son capaces de actuar en la proliferación de células madre hematopoyéticas. Su ausencia conduce a la muerte celular programada (apoptosis), mientras que su presencia preserva la viabilidad celular[19-21]. En el mantenimiento de la hematopoyesis, además de los factores de estimulación, intervienen factores inhibitorios, los cuales tienen también un papel en el control de la producción celular normal y, asimismo, evitan fluctuaciones cíclicas del sistema.

Factores de crecimiento hematopoyéticos

Hasta la actualidad, se han identificado más de 25 tipos de factores de crecimiento. Éstos incluyen la eritropoyetina (EPO), la trombopoyetina (TPO), los factores estimulantes de colonias (FEC) y los conocidos como interleucinas (IL), debido a que son producidos por leucocitos y su acción también recae sobre ellos. Inicialmente, se creía que alguno de estos factores ejercía una acción específica restringida a una línea celular; sin embargo, se ha podido comprobar que la mayoría actúan de forma sinérgica entre ellos (fig. 1.4)[19,22-24].

La EPO es la principal hormona reguladora en la proliferación de los precursores eritroides y su diferenciación a eritrocitos. El gen que la codifica se localiza en el cromosoma 7q11-22. Se produce, principalmente, en los riñones y, en una pequeña cantidad, en el hígado. Actúa sobre los progenitores y los precursores eritroides en la médula ósea, el bazo y el hígado fetal, y estimula la formación de colonias eritroides (BFU-E y CFU-E). La EPO actúa sobre la proliferación de los eritroblastos, incrementa la cantidad de reticulocitos circulantes y acorta el tiempo del paso de eritroblasto a reticulocito. También se ha descrito cierto efecto estimulador de la EPO sobre la megacariopoyesis[12,19,24].

El factor estimulante de colonias macrofágicas (FEC-M), denominado también FEC-1, actúa induciendo preferentemente el crecimiento y la maduración de macrófagos, aunque su acción recae también sobre el crecimiento de colonias granulocíticas y granulomonocíticas[13,19]. Es secretado por una gran variedad de tipos celulares, y su producción está codificada por un gen localizado en el cromosoma 5q33.

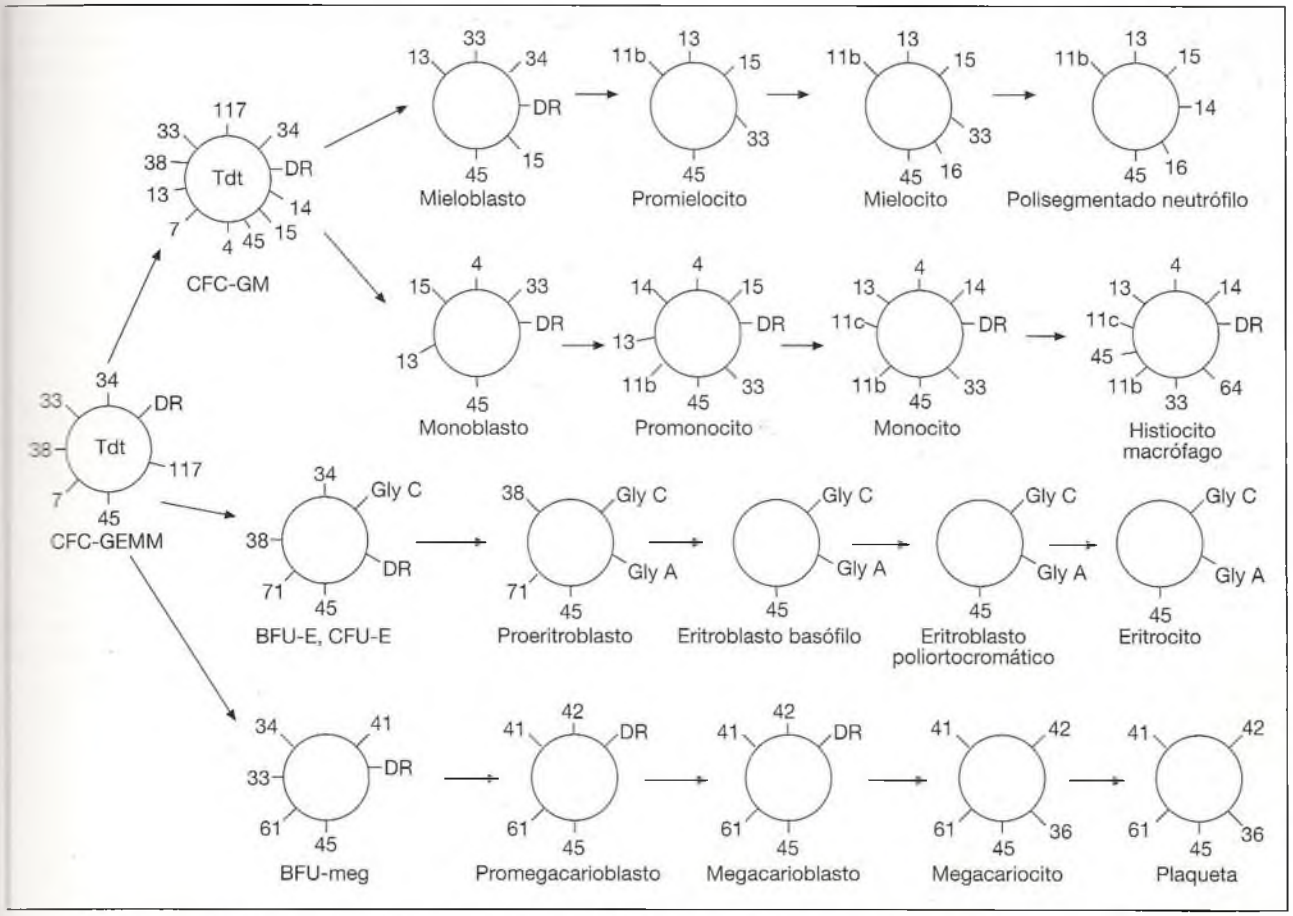


Figura 1.3. Distribución de los antígenos de superficie de las células hematopoyéticas en su diferenciación.

El factor de crecimiento de colonias granulomonocíticas (FEC-GM) o factor estimulante de colonias alfa (FEC-α), denominado también pluripoyetina alfa, actúa induciendo el crecimiento de precursores granulomonocíticos, así como de los progenitores granulocíticos, macrofágicos, eosinófilos, basófilos y megacariocíticos. También favorece la maduración de los precursores neutrófilos, eosinófilos, monocitos y macrófagos. Actúa sinérgicamente con la IL-3 y la EPO para incrementar la formación de colonias pluripotentes y eritroides, y con el FEC-M para inducir un crecimiento óptimo de macrófagos. Las células responsables de la producción de FEC-GM son los linfocitos T, los fibroblastos, las células endoteliales y los macrófagos, y está codificado por un gen que se localiza en el cromosoma 5q23-31.

El factor estimulante de colonias granulocíticas (FEC-G) o factor estimulante de colonias beta (FEC-β) está producido, mayoritariamente, por células endoteliales, fibroblastos, monocitos y macrófagos[13,19]. Actúa sobre la proliferación y la diferenciación de la línea granulocítica, así como sobre su maduración y, sinérgicamente con la IL-3, sobre la proliferación de progenitores multipotentes y megacariocíticos. El gen que codifica su producción se localiza en el cromosoma 17 (17q21-22).

La trombopoyetina (TPO), de aislamiento reciente, es el principal factor regulador de la megacariopoyesis[25-27]. Actúa en todas las fases evolutivas de forma directa, sinérgica y aditiva con otros factores hematopoyéticos. La TPO presenta el 25% de analogía molecular con la EPO (dominio Epo-*like*), donde reside su acción biológica[27]. El gen humano que codifica la producción de este factor se encuentra en el brazo largo del cromosoma 3 (3q26-27). En el hombre, la producción de TPO tiene lugar en el hígado, aunque también puede sintetizarse en el riñón[28]. La TPO induce directamente la proliferación de CFU-Meg y megacariocitos inmaduros[29], e interviene en la fase madurativa, tanto en la poliploidización como en la diferenciación terminal con formación de proplaquetas. Como otros factores reguladores de la hematopoyesis, la TPO tiene efectos de multipoyetina en otras líneas celulares. Es conocido su efecto sinérgico con la EPO tanto en la eritropoyesis precoz como en la tardía, y con la IL-3 y el *stem cell factor* (SCF) en fases muy primitivas de la hematopoyesis[19,29]. De los estudios clínicos y biológicos realizados en estos últimos años con la utilización de la TPO han surgido dos hechos inesperados: la acción proliferativa de la TPO sobre los progenitores megacariocíticos, y su acción sinérgica en casi la totalidad de las líneas mieloides. Actualmente, está considerada como el principal regulador fisiológico de la producción plaquetaria. Los valores de TPO aumentan y disminuyen inversamente con la masa plaquetaria[30].

La interleucina 3 (IL-3) o multi FEC es conocida como *burst promoting activity* (BPA), y está producida por linfocitos T, fibroblastos, células endoteliales, mastocitos y células *natural killer* (NK). Tiene la capacidad de favorecer el crecimiento celular del compartimento de células madre y de estimular el crecimiento y la diferenciación de varias líneas celulares sanguíneas que incluyen granulocitos, macrófagos, megacariocitos, eritrocitos, eosinófilos y mastocitos. No obstante, la IL-3 sola es incapaz de

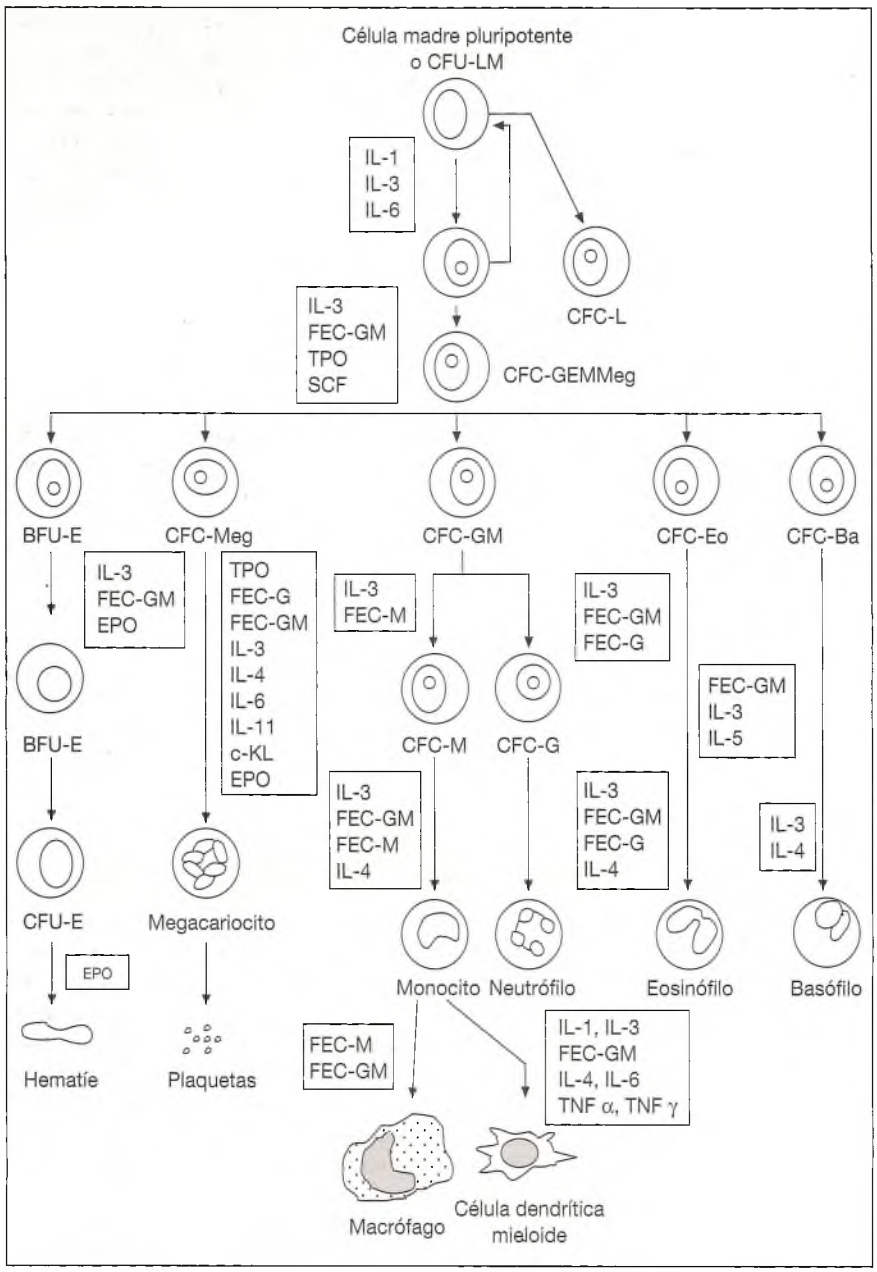


Figura 1.4. Modelo de hematopoyesis humana con los distintos progenitores celulares mieloides, linfoides y los diversos factores de crecimiento celular que actúan sobre ellos (v. el texto).

mantener el desarrollo completo de una línea celular. Actúa sinérgicamente con el GM-CSF, G-CSF, EPO, TPO, IL-11 e IL-6, y aumenta la formación de colonias granulomacrofágicas, neutrófilas, eritroides y megacariocíticas. Respectivamente, promueve también la proliferación de mastocitos y eosinófilos, y también potencia la actividad de los eosinófilos, basófilos y mastocitos. La IL-3 y el FEC-GM tienen una acción aditiva sobre la megacariopoyesis. Actualmente, se dispone de una molécula híbrida que contiene los dominios activos de ambos factores, conocida como PIXY 321, que aumenta el poder proliferativo si se compara con la acción individual de la IL-3 y del FEC-GM[19,23,24,31]. El gen que codifica la producción de la IL-3 se localiza en el cromosoma 5q23-31.

El resto de factores de crecimiento de células hematopoyéticas incluye las interleucinas 1, 2, 4, 5, 6, 7, 9, 11 y el *c-kit* ligando[19,23,24]. Existen nuevos factores de crecimiento de los que se espera un papel destacado en la regulación de la hematopoyesis como el Flt3 ligando, Nochets ligando, Wnt y la familia de los factores de crecimiento del endotelio vascular (FCV)[19].

La IL-1 o hemopoyetina es secretada por los monocitos, células endoteliales y fibroblastos, y presenta un efecto sinérgico con otros factores, ya que no tiene capacidad por ella misma de estimular progenitores mieloides; el gen que la codifica se localiza en el cromosoma 2q. La IL-2 o factor de crecimiento de células T es producida por los linfocitos T y, a su vez, estimula su crecimiento. El gen que la codifica se halla en el cromosoma 4q. La IL-4 puede actuar junto a la EPO y el FEC-G y, posiblemente, con el FEC-M, e incrementa el crecimiento de colonias eritroides y monocíticas. El gen que la codifica se halla en el cromosoma 5q. La IL-5, formada por los linfocitos T y mastocitos, actúa sobre los progenitores eosinófilos. El gen que codifica la producción de la IL-5 se localiza en el cromosoma 5q31. La IL-6, la IL-11 y la oncostatina son miembros de la familia de

la IL-6 que comparten actividad estimulante de la mielopoyesis y favorecen la megacariopoyesis[19]. La IL-6 es generada por linfocitos B y T, fibroblastos, células endoteliales, macrófagos y células de la estroma medular. Actúa de forma sinérgica con la IL-3, FEC-GM, FEC-G y FEC-M, y aumenta el crecimiento de granulocitos y macrófagos. Interviene en la proliferación y maduración megacariocítica. El gen que la codifica se localiza en el cromosoma 7q. La IL-9 es producida por linfocitos T, y actúa sobre la eritropoyesis. La IL-11, al igual que la IL-6, favorece la maduración megacariocítica y actúa sinérgicamente con la IL-3, acortando el período de G_0 de las células progenitoras más inmaduras de la hematopoyesis. Asimismo, estimula células B y mastocitos. La oncostatina M es segregada por linfocitos T, macrófagos, eosinófilos, fibroblastos, células endoteliales y células de la estroma medular. El factor de células madre (*stem cell factor*) o *c-kit* ligando (SCF), denominado también factor del mastocito, tiene una acción muy limitada sobre la hematopoyesis cuando actúa aisladamente, mientras que presenta importantes acciones sinérgicas con otros factores (IL-1, IL-3, FEC-GM y FEC-G). El SCF se une con su ligando el *c-kit*, que es una tirosín cinasa que se expresa en las células progenitoras hematopoyéticas e interviene en la regulación de la diferenciación celular. Está producido por fibroblastos, células endoteliales y células de la estroma medular. La IL-7 estimula la formación de células pre-B, pre-T y megacariocitos. Está producida por linfocitos T y células de la estroma medular, y el gen que la codifica se localiza en el cromosoma 8q.

El Flt3 ligando es un importante regulador de la hematopoyesis que actúa al unirse a una tirosín cinasa (Flt3). El Flt3 ligando presenta acciones sinérgicas con otros factores (SCF, IL-3, FEC-GM, FEC-G, TPO, IL-6, IL-11 y IL-2) para estimular diferentes células mieloides muy inmaduras; junto a la IL-7, favorece la formación de linfocitos B[19].

La familia de los factores de crecimiento del endotelio vascular (FCV) son esenciales para regular la angiogénesis normal y patológica, e intervienen en la proliferación, supervivencia y movilización de las células madre hematopoyéticas[19].

Para una revisión más detallada de estos factores, se remite al lector a excelentes revisiones[19,23,24].

En la tabla 1.1 se esquematizan los diversos factores de crecimiento hematopoyético con acción estimulante de colonias mieloides, así como los cromosomas que contienen los genes que codifican su producción y la de sus receptores.

Acción de los factores de crecimiento en los progenitores hematopoyéticos

Entre las células progenitoras maduras hay tres tipos comprometidos para la eritropoyesis: la CFU-E, la BFU-E madura y la BFU-E primitiva. Estas BFU-E requieren la presencia de ciertos valores de EPO y de IL-3, y un largo período de incubación, para que aparezca en ellas la diferenciación eritroblástica. La más diferenciada, denominada CFU-E, precisa escasos valores de EPO, pero algunos más de IL-3, así como un período de cultivo corto, para dar origen al primer elemento reconocible de la serie eritroide (proeritroblasto)[12,32]. La célula comprometida para la granulomonopoyesis (CFC-GM) prolifera y madura bajo la acción del FEC-GM y de la IL-3, originando posteriormente dos células comprometidas, una a la granulopoyesis neutrófila o CFC-G, y otra a la monopoyesis o CFC-M, originando, con posterioridad, el mieloblasto y el monoblasto, respectivamente[13,33]. Sobre la CFC-G actúa el FEC-GM y el FEC-G, y sobre la CFC-M, el FEC-GM y el FEC-M. La serie eosinófila tiene un progenitor específico, el CFC-Eo, que es estimulado por un factor secretado, sobre todo, por los linfocitos T, y denominado FEC-Eo o también interleucina 5 (IL-5). A través del efecto de este factor, se produce la proliferación y maduración hacia el primer elemento de la serie morfológicamente reconocible, el mielocito eosinófilo inmaduro[13]. Lo mismo se produce con la serie basófila; la célula comprometida de esta línea es la CFC-Ba, que prolifera bajo la acción de la IL-3[34]. En la actualidad, se conocen con mayor exactitud las células germinales comprometidas en la megacariopoyesis humana. En el hombre se reconocen, por lo menos, dos tipos de precursores megacariocíticos capaces de formar colonias *in vitro*: el BFU-Meg, que representa el progenitor inmaduro, y el CFC-Meg o progenitor maduro. Son pequeñas células mononucleadas identificables mediante anticuerpos. Ambos progenitores son CD34 positivos, perdiéndose el antígeno para el HLA-DR en los progenitores más maduros. Su diferenciación hacia la trombopoyesis se halla también condicionada fundamentalmente por dos tipos de factores humorales, los conocidos como factores estimulantes de colonias megacariocíticas (FEC-Meg), que actúan en las fases iniciales de la proliferación megacariocítica, y otros, denominados factores potenciadores de la megacariopoyesis o *Mega-pot*, indispensables para la maduración de los megacariocitos y para la formación de plaquetas. Al primer grupo pertenecen la IL-3, FEC-GM e IL-6, mientras que la TPO, la EPO y la IL-11 presentan acción *Mega-pot*[35].

Factores inhibidores de la hematopoyesis

La hematopoyesis normal está controlada por un sistema dinámico integrado por factores de estimulación y de inhibición. El resultado de la acción de los factores estimuladores es la proliferación y diferenciación de los progenitores, mientras que los factores inhibitorios centran su acción en el mantenimiento de la masa celular hematopoyética por inhibición de la fase mitótica celular, y así previenen la pérdida de células madre y progenitores hematopoyéticos, básicamente a través de la apoptosis. Se reconocen varios factores inhibitorios[19,24].

La proteína inflamatoria del macrófago (MIP-1α) es una pequeña molécula producida por los macrófagos que cumple los criterios de un verdadero inhibidor: no es citotóxico y su acción es reversible. Presenta una capacidad muy potente para inhibir la proliferación de las células madre, evitando que entren en la fase S del ciclo celular. A su vez, la MIP-1α presenta una capacidad estimuladora del crecimiento de progenitores maduros[4].

El factor transformador del crecimiento beta (TGF-β) es producido por varios tipos de células, en distintas isoformas, y presenta una actividad biológica dependiente de la dosis similar en distintos tejidos. En la hematopoyesis, el TGF-β inhibe la proliferación de progenitores precoces, aunque al igual que otros factores inhibitorios, tiene capacidad estimuladora del crecimiento de progenitores maduros[19].

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) también presenta una acción bidireccional sobre las células hematopoyéticas. Por una parte, potencia la acción proliferativa de la IL-3 y de las GM-CSF y, por otra parte, ejerce una acción inhibitoria en distintos progenitores hematopoyéticos.

Al pentapéptido P Glu-Glu-Asp-Cys-Lys se le reconoce también una acción inhibitoria reversible.

TABLA 1.1

Factores de crecimiento hematopoyético con actividad estimulante de colonias mieloides

Nombre	Abreviación	Sinonimia	Origen	Actividad principal en cultivos celulares	Ubicación cromosómica
Eritropoyetina	EPO		Riñón	Actúa en la proliferación y maduración de la línea eritroide en los estadios más maduros	7q11-22
Trombopoyetina	TPO		Riñón, hígado	Megacariopoyesis	3q26-27
FEC-macrofágico	FEC-M	FEC-1	M End Fib	Permite el crecimiento de colonias de macrófagos	5q33
FEC-granulo-macrofágicas	FEC-GM	FEC-α-pluripoyetina	T End Fib Macrófagos Osteoblastos	Permite el crecimiento de colonias de granulocitos y macrófagos y junto a la EPO permite el crecimiento de colonias multilínea que contienen eritrocitos	5q23-31
FEC-granulocítico	FEC-G	FEC-β-pluripoyetina	M End Fib Osteoblastos	Permite el crecimiento de colonias de granulocitos neutrófilos	17q21-22
Interleucina 1	IL-1α y β	Hemopoyetina Factor estimulante de linfocitos	Monocitos End Fib	Sola no tiene actividad FEC, pero junto con la IL-3 coestimula las células primitivas	2q
Interleucina 2	IL-2	Factor de crecimiento de células T	T	Estimula el crecimiento de células T, pero no de células mieloides	4q
Interleucina 3	IL-3	*Burst promoting activity* Factor de crecimiento de células hematopoyéticas (FCCH) Factor de crecimiento de mastocitos	T End Fib Mastocitos NK	Estimula todas las células comprometidas en una línea y células multilíneas mieloides	5q23-31
Interleucina 4	IL-4	Factor de crecimiento I de células B (FEB-I) (BSF-1)	T	Coestimula todos los tipos de células uni y multilínea mieloide en combinación con otro FEC	5q
Interleucina 5	IL-5	Factor estimulante de eosinófilos Factor de crecimiento II de células B (FEC-BII)	T Mastocitos T, B, M	Estimula la formación de colonias eosinófilas Coestimula células formadoras	5q31 7q
Interleucina 6	IL-6	Interferón beta 2 Factor estimulante de células B	Fib, End Osteoblastos	de colonias muy primitivas en colaboración con IL-3	
Interleucina 7	IL-7	Linfopoyetina	T	Estimula células pre-B, pre-T y megacariocitos	8q
Interleucina 9	IL-9	–	T	Estimula células T y progenitores eritroides	–
Interleucina 11	IL-11	–		Estimula células B, megacariocitos y mastocitos	–
C-kit ligando	cKL	Factor *stem cell* Factor del mastocito	F End	Acción sinérgica de los factores para estimular líneas múltiples	–

T: linfocitos T; End: célula endotelio; Fib: fibroblastos; M: monocitos; NK: célula *natural killer*; B: linfocitos B. La línea (–) indica desconocido.

Otras moléculas como los interferones, las prostaglandinas y el factor 4 plaquetario también poseen acción inhibitoria, aunque sus efectos son indirectos y complejos[19].

Apoptosis

La mayoría de células formadas durante la hematopoyesis antes de que alcancen su completa maduración ya están destinadas a desaparecer, mediante el mecanismo de la apoptosis; de esta forma, la homeostasis del número celular se mantiene por un equilibrio entre mitosis y apoptosis[20,21].

La apoptosis o muerte celular programada, en oposición a la necrosis o muerte celular accidental, no es un proceso reservado únicamente a la célula madura, dañada o antigua sino que también interviene en la regulación celular en todos sus estadios madurativos, desde el compartimento de células madre hasta los precursores más diferenciados. El número de células maduras producidas representa una fracción del potencial celular generado por los progenitores. La apoptosis mantiene la homeostasis de la población de las células en división, mediante la extracción de una célula muerta por cada nueva célula producida por mitosis. Para alcanzar este proceso, las señales de supervivencia y muerte celular son transmitidas a través de los receptores de membrana celular. Durante la apoptosis, el DNA nuclear se fragmenta, y se producen cambios morfológicos en el núcleo y en el citoplasma, seguidos de la muerte celular. Las células muertas por apoptosis muestran rasgos morfológicos muy característicos, que incluyen la marginación de la cromatina nuclear, su condensación y fragmentación, protrusiones de la membrana y contracción celular[20,21]. A diferencia de lo que acontece en la necrosis, en la apoptosis no se produce la rotura de la membrana citoplasmática. Los fragmentos nucleares envueltos en una unidad de membrana forman los cuerpos apoptóticos que, posteriormente, serán fagocitados por los macrófagos medulares. El proceso de la apoptosis se desarrolla en dos fases. En la primera, o fase de activación, la célula recibe una señal de muerte celular por la cual se activa este proceso. Estas señales pueden ser desde la deprivación de un factor de crecimiento (p. ej., eritropoyetina), hasta la adición de una hormona (p. ej., dexametasona) o al incremento del valor de una proteína intracelular, como la p53. La segunda fase es la fase efectora de la muerte celular. La ejecución de la apoptisis tiene lugar gracias a un número limitado de vías moleculares que convergen para activar una familia de proteasas denominadas caspasas. Aún así, hay evidencia de que la apoptosis puede tener lugar aunque esta familia de proteasas esté inhibida. El proceso apoptótico puede tener lugar por dos vías bien diferenciadas: por la vía intrínseca o por la vía extrínseca. En la vía intrínseca desempeña un papel determinante la familia de proteínas Bcl-2, formada por proteínas reguladoras proapoptóticas y antiapoptóticas. La activación de las caspasas tiene lugar gracias a las proteínas proapoptóticas, como Bax y Bad. En cambio, la unión a proteínas antiapoptóticas, como Bcl-2, inhibe la activación de las caspasas, aunque si esta interacción tiene lugar en ausencia de factores tróficos, se produce la muerte celular. En cambio, la vía extrínseca se activa mediante la unión de polipéptidos de la familia del TNF o ligandos de Fas a sus receptores de la membrana plasmática. Tanto la vía intrínseca como la extrínseca inician la activación de una cascada de caspasas, que finaliza con la inactivación de proteínas de reparación del DNA y también de proteínas que mantienen la homeostasis celular o regulan la integridad del citoesqueleto[20,21,36].

ESTROMA CELULAR

Junto con los efectos mediados por las citocinas, las interacciones directas célula-célula desempeñan un papel importante en la hematopoyesis medular. Las células de la estroma medular ejercen su acción hematopoyética mediante el contacto directo con los progenitores, junto con la acción de las citocinas y las proteínas moduladoras de la matriz extracelular secretadas por ellas. Si este proceso falla, la hematopoyesis no progresa.

Células de la estroma medular

El compartimento celular de la estroma medular está dividido en tres categorías: el de las células madre mesenquimales, que producen fibroblastos, adipocitos y osteoblastos, el de los monocitos/osteoclastos y el de las células endoteliales.

La célula reticular (fibroblasto-fibrocito) procede del mesénquima[37-40] y es, por tanto, una célula no hematopoyética, capaz de proliferar *in vitro* después de una irradiación corporal total de 1.000 cGy, con lo que queda abolido todo vestigio de hematopoyesis. En la pared sinusoidal se transforman en células adventicias, que pueden acumular grasa y transformarse en adipocitos, derivados de una célula precursora fibroblástica (CFU-F)[40]. Estos adipocitos tienen un tamaño medio de 51,1 µm, y se caracterizan por presentar un núcleo lateralizado, con un gran citoplasma repleto de material amorfo. Los adipocitos constituyen el componente celular mayoritario de la médula amarilla, y poseen unos lípidos que difieren químicamente del resto de la grasa del organismo, ya que contienen mayor proporción de ácidos grasos insaturados. Dicha grasa puede movilizarse rápidamente cuando hay una hematopoyesis acelerada[41].

Los progenitores y los precursores hematopoyéticos, para migrar de la médula ósea, pasan a través de la barrera endotelial de los sinusoides. El proceso de migración de los precursores hematopoyéticos depende, en parte, de la interacción entre las células CD34+ y las moléculas ICAM 1 e integrinas que expresan las células endoteliales. Los factores de crecimiento angiogénico, como el factor de crecimiento del endotelio vascular y las angiopoyetinas, también intervienen en la migración de las células hematopoyéticas medulares hacia otros tejidos[19].

Las células de la estroma secretan unos componentes que forman la «matriz extracelular»: fibronectina, laminina, colágeno y glucosaminoglucanos (sulfato de heparán) entre los más representativos. Algunos de estos componentes, como la fibronectina y la hemonectina, proporcionan el sustrato esencial al que se adhieren los progenitores mieloides y eritroides durante su desarrollo.

En la hematopoyesis mediada por células de la estroma se implican distintos mecanismos que pueden actuar: 1) por acción directa de los factores de crecimiento localizados en la membrana de las células de la estroma, y 2) por acción de los factores de crecimiento localizados en la matriz extracelular. Estos factores han sido previamente secuestrados por las moléculas de la matriz extracelular para, posteriormente, ser presentados a la célula hematopoyética diana. Estos mecanismos configuran el concepto de pequeños microambientes anatómicos, donde se localizan factores de crecimiento que ejercen su acción de forma preferente hacia cada una de las líneas celulares (nichos celulares)[4,37,42].

El crecimiento y la maduración de las células hematopoyéticas pueden ser modulados, en parte, por los factores de crecimiento, aunque no son los únicos componentes de su regulación. Las moléculas de adhesión y las de asentamiento

(*homing*) pueden ser moduladas por citocinas; asimismo, tienen un papel en la determinación de las interacciones entre las células de la estroma y las células hematopoyéticas y, presumiblemente, son un requisito para que las células sean capaces de alojarse en regiones específicas y, además, responder a los estímulos locales.

Moléculas de adhesión celular

La mayoría de receptores celulares o *moléculas de adhesión celular* (MAC) son glucoproteínas con secuencias de aminoácidos variables. Hasta la actualidad se han descrito más de 50 MAC, las cuales pueden ser agrupadas en un pequeño número de superfamilias, que difieren en la duración de las interacciones adhesivas que median, así como en la afinidad de las interacciones macromoleculares que soportan[37,42].

Se reconocen las siguientes superfamilias:

1. *La superfamilia de las inmunoglobulinas,* que se expresa predominantemente en células mediadoras de la inmunidad. Pertenecen a esta familia los receptores de la célula T y las inmunoglobulinas. Los primeros reconocen péptidos antigénicos a través de dos moléculas de la superficie de las células presentadoras del antígeno, la molécula de histocompatibilidad mayor I y la II (MHC-I, MHC-II), así como a través de los receptores conocidos como antígenos de función del linfocito o LFA-2 y LFA-3. Estos receptores se unen a unos contrarreceptores situados en la célula diana, conocidos como ICAM-I e ICAM-II.
2. *La familia de las integrinas,* formada por un conjunto de proteínas que intervienen en la adhesión célula-célula y célula-matriz extracelular. Se denominan así por su capacidad para integrar el citoesqueleto intracelular con la matriz extracelular. Estos receptores participan en diversos procesos celulares implicados en la adhesión, migración y asentamiento celular, la diferenciación celular, la inflamación y en la diseminación metastásicas. Estructuralmente, son glucoproteínas formadas por heterodímeros constituidos por una asociación no covalente entre una subunidad α y una subunidad β que se combinan entre sí, de las que se han identificado 15 cadenas α y 8 cadenas β. Las integrinas se subdividen según la composición de estas cadenas β.
3. *La superfamilia de las selectinas* constituida, a su vez, por tres familias designadas por los prefijos E (endotelial), P (plaquetas) y L (leucocitos), que intervienen en el asentamiento de los linfocitos y en las interacciones del leucocito, así como de la plaqueta con la célula endotelial.
4. *La superfamilia de las sialomucinas,* glucoproteínas que se expresan en los tejidos del sistema hematopoyético; el CD34 es uno de sus componentes.
5. *Las MAC dependientes de cationes.*
6. *Otras*[42] (tabla 1.2).

TABLA 1.2

Superfamilias de moléculas de adhesión celular (MAC)

1. Inmunoglobulinas
   ICAM-1 (CD54)
   ICAM-2
   ICAM-3
   PECAM-1 (CD31)
   VCAM-1
   LFA-2 (CD2)
   LFA-3 (CD58)
   CD3/Receptor célula T
   CD4
   CD8
   Thy-1
   Complejo mayor de histocompatibilidad clase I y II
   N-CAM
   C-kit
2. Integrinas
   Múltiples combinaciones de 8 cadenas β y 15 cadenas α
3. Selectinas
   L-Selectina (CD62L)
   E-Selectina (CD62E)
   P-Selectina (CD62P)
4. Sialomucinas
   CD34
   CD43 (leucosalina, sialoforina)
   GlyCAM-1
   MAdCAM-1
   PSGL-1 (CD162)
5. MAC dependiente de cationes
   N-Cadherina
   E-Cadherina
   P-Cadherina
6. Otras
   CD44
   Syndecan-1 (CD138)
   CD36

CARACTERÍSTICAS DE LAS CÉLULAS QUE INTEGRAN EL COMPARTIMENTO DE MADURACIÓN Y DIFERENCIACIÓN HEMATOPOYÉTICO Y DE LA MATRIZ ÓSEA

Mielopoyesis

La mayoría de células de la médula ósea pertenecen a precursores mieloides y eritroides en una proporción normal de 3 a 1. Los precursores linfoides, las células plasmáticas y los monocitos, junto con los progenitores mieloides, representan el 10% de la totalidad de las células medulares.

A continuación se refieren las características morfológicas, fenotípicas y citoquímicas de las células que integran el compartimento de maduración y diferenciación hematopoyético[43].

Serie eritroblástica

En condiciones normales, la serie eritroblástica importa el 30 a 35% de los elementos nucleados de la médula ósea. La secuencia madurativa de esta serie se inicia con el proeritroblasto, el cual da origen al eritroblasto basófilo, y éste al eritroblasto policromático y al eritroblasto ortocromático. Los cambios morfológicos que acontecen durante su maduración se caracterizan por una notable disminución del tamaño nuclear de los eritroblastos, con condensación progresiva de la cromatina y desaparición de los nucléolos. El citoplasma evoluciona perdiendo la intensa basofilia propia de los estadios más jóvenes, y adquiere la acidofilia típica que le proporciona la hemoglobina en los estadios más maduros (figs. 1.5 a 1.7).

Una vez finalizada la maduración del eritroblasto ortocromático, el núcleo, expulsado de la célula por un mecanismo no del todo conocido, es fagocitado posteriormente por las células del sistema mononuclear fagocítico de la médula ósea.

Nombre		Tamaño celular	Núcleo	Nucléolo visible	Relación núcleo/citoplasma	Tinción citoplasma
Proeritroblasto		20-25 µm	Redondo	1 a 2	Muy elevada	Basófilo
Eritroblasto basófilo		16-18 µm	Redondo	No	Elevada	Hiperbasófilo
Eritroblasto policromático		8-12 µm	Redondo	No	Baja (25%)	Acidófilo
Eritroblasto ortocromático		7-10 µm	Redondo/ picnótico	No	Muy baja	Muy acidófilo
Reticulocito		8-9 µm				± Basófilo
Hematíe		7 µm				Acidófilo

Figura 1.5. Características morfológicas de las células constituyentes de la línea eritroide.

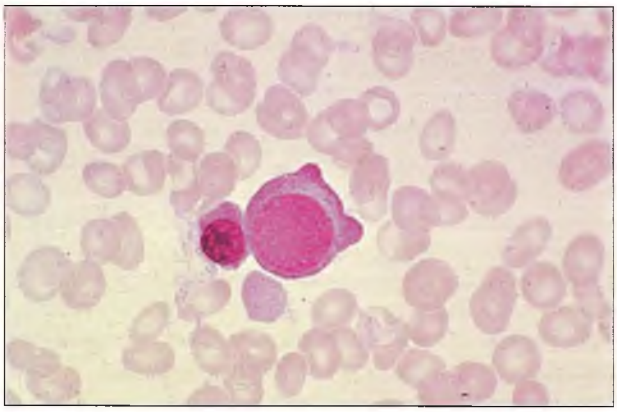


Figura 1.6. Proeritroblasto (May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

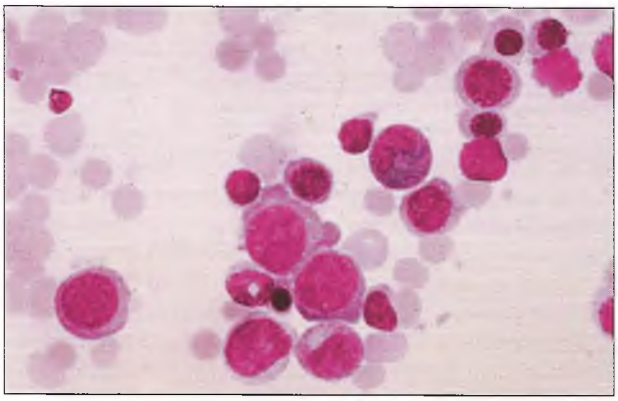


Figura 1.7. Varios eritroblastos basófilos y policromáticos (May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

Con la pérdida del núcleo, el eritroblasto ortocromático se transforma en *reticulocito*, elemento anucleado que todavía posee cierta capacidad de síntesis de RNA, proteínas y hemoglobina, gracias a la persistencia de algunas mitocondrias, ribosomas y restos de reticuloendoplasma. Su tamaño es algo superior al del hematíe adulto (8-9 µm), y conserva cierto grado de basofilia-policromatofilia (fig. 1.8). A medida que madura el reticulocito, va perdiendo retículo granulofilamentoso, hasta transformarse en un hematíe maduro, desprovisto de retículo. El reticulocito permanece algunos días en la médula ósea y, posteriormente, pasa a la sangre periférica, donde persiste durante 24 horas y finaliza su maduración. El tiempo que tarda en madurar el proeritroblasto a reticulocito es de 3 a 4 días. El recuento del número de reticulocitos en sangre periférica es un dato muy útil para establecer la efectividad global de la eritropoyesis y para determinar el origen central o periférico de una anemia, así como para valorar el carácter regenerativo o arregenerativo de los síndromes anémicos.

Los valores normales de los reticulocitos en sangre periférica oscilan entre 35 y 75 × 10^9/L; si los valores son inferiores, indican una eritropoyesis insuficiente.

El *hematíe* o *eritrocito* es el elemento más maduro de la eritropoyesis. Su misión fundamental es la captación de oxígeno y su transporte a los tejidos. Los eritrocitos son elementos anucleados, de color rosado y de forma redondeada u oval, con una depresión o zona más clara en el centro. Al cortarlos transversalmente se observa que tienen forma de disco bicóncavo, de unos 2 µm de espesor, con un diámetro

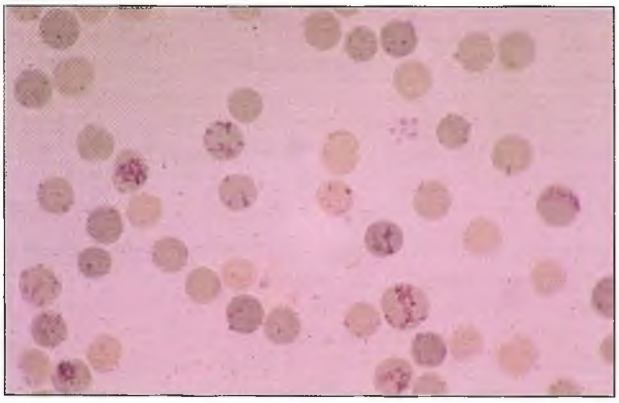


Figura 1.8. Reticulocitos (tinción vital, ×1.000).

aproximado de 7 µm. Las características de su coloración son debidas a la riqueza y distribución hemoglobínica de su interior, y a su tamaño y forma.

El inmunofenotipo de los elementos de la línea eritroide varía con su maduración. Los progenitores más inmaduros se caracterizan por presentar positividad para CD34, HLA-DR, CD38, CD71 y CD45, y negatividad para la glicoforina A. En la fase de proeritroblasto expresan glicoforina A, disminuyen los antígenos CD34, CD38, CD71, CD45 y pierden el HLA-DR. La expresión de glicoforina A es máxima en el estadio de eritroblasto basófilo, y se mantiene hasta el hematíe. La glicoforina C es un buen marcador de línea eritroide que se expresa ya en las BFU-E y en las CFU-E[12,16-18].

Las alteraciones de la forma y del contenido hemoglobínico de los hematíes pueden analizarse mediante un estudio detallado de la sangre periférica tras su tinción panóptica y en zonas correctamente extendidas, observación de gran utilidad en el diagnóstico de diversas hemopatías (fig. 1.9).

Serie granulopoyética

Las células de la granulopoyesis constituyen el 60-65% de los componentes citológicos medulares. Los cambios morfológicos evolutivos se resumen en la reducción de la relación nucleocitoplasmática, la desaparición de los nucléolos, la maduración de la cromatina nuclear, la desaparición de la basofilia citoplasmática, la aparición de la granulación primaria o azurófila a partir del promielocito y, por último, en la aparición de la granulación secundaria o específica (neutrófila, eosinófila, basófila) a partir del mielocito.

La secuencia celular de los elementos granulocíticos morfológicamente identificables se inicia con el mieloblasto, el cual da origen al promielocito y éste, al mielocito, al metamielocito, a la forma en banda y, finalmente, al segmentado. El mielocito es el último elemento con capacidad mitótica (figs. 1.10 a 1.12). Por último, tiene lugar la indentación y segmentación nuclear, al llegar a los estadios de metamielocito y segmentado, respectivamente.

Los *granulocitos segmentados* se originan a partir de las formas en banda por segmentación nuclear, y son los elementos más maduros de la granulopoyesis. Circulan por la sangre periférica, donde ejercen sus funciones de fagocitosis y bacteriólisis. Según el tipo de granulación específica se identifican los neutrófilos, eosinófilos y basófilos.

Mediante estudios citoquímicos ultraestructurales y de cultivos celulares, se ha demostrado que los eosinófilos derivan de un precursor granulocitario diferente del de los neutrófilos y, para algunos autores, el basófilo también tiene un precursor propio.

La *granulación primaria* o *azurófila* es característica de esta estirpe celular. Por su elevado contenido en hidrolasas ácidas puede considerarse formada por lisosomas primarios. Estas hidrolasas son secretadas en el retículo endoplásmico, por lo que su demostración ultraestructural marcará los estadios iniciales de la diferenciación granulocítica. Los gránulos primarios contienen diversas enzimas, según ha podido demostrarse por técnicas citoquímicas y bioquímicas. La mieloperoxidasa se localiza exclusivamente en la granulación primaria, y es el mejor marcador enzimático de este tipo de granulación. Del contenido total de lisozima, proteína catiónica rica en arginina, una tercera parte se localiza en los gránulos primarios, y el resto en los gránulos secundarios. La fosfatasa ácida se sitúa igualmente en la granulación primaria; sin embargo, según los sustratos empleados para su demostración, puede hallarse en otras estructuras. En la granulación primaria pueden demostrarse otras hidrolasas, como la betagalactosidasa, la betaglucuronidasa, la N-acetil-betaglucosaminidasa, la arilsulfatasa, la esterasa y la naftilamidasa. Los mucopolisacáridos sulfatados contribuyen al carácter azurófilo de la granulación primaria y determinan una fuerte metacromasia al ser teñidos con azur A.

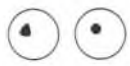
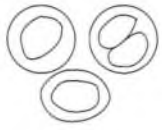
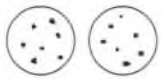
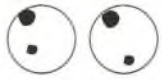
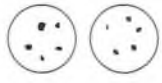
En estadios evolutivos posteriores, a partir del mielocito, aparece la *granulación específica* o *secundaria*. Son gránulos de menor tamaño (0,3 µm) y menos densos que los gránulos primarios. A partir del mielocito, en la granulopoyesis neutrofílica coexisten los gránulos primarios y los secundarios. Al sucederse las divisiones celulares, las células hijas van poseyendo un menor número de gránulos primarios, con lo que los secundarios adquieren un valor numérico superior, prepondernando sobre los primarios. La granulación primaria representa la tercera parte del total, y las dos terceras partes restantes corresponden a la granulación secundaria en el polinuclear segmentado. Los gránulos secundarios de los neutrófilos son negativos a la mieloperoxidasa, y contienen lisozima en proporción superior a la de los primarios. El mejor marcador de la granulación secundaria de los neutrófilos es la lactoferrina, aunque contiene otras sustancias, como las proteínas captadoras de vitamina B_{12} y la gelatinasa. Existen también gránulos terciarios que contienen gelatinasa, con rasgos morfológicos similares a los gránulos secundarios, pero algo menos densos, que se conocen también como gránulos gelatinasa. Se supone que se movilizan hacia la superficie celular en respuesta a pequeños estímulos. Por otra parte, los neutrófilos presentan unas estructuras vesiculares submembranarias en las que se localiza la fosfatasa alcalina granulocitaria (tabla 1.3).

Los *granulocitos segmentados neutrófilos* contienen numerosos gránulos secundarios que se tiñen de color marrón con las coloraciones panópticas habituales, así como cierto número de gránulos primarios o azurófilos, difícilmente visibles al quedar enmascarados por los primarios. Citoquímicamente, los granulocitos segmentados neutrófilos son positivos a la mieloperoxidasa, a la fosfatasa ácida, a la cloroacetatoesterasa, a la catepsina G y a la elastasa. Contienen, asimismo, material PAS-positivo y lactoferrina, entre otras sustancias detectadas citoquímicamente. Las principales alteraciones morfológicas de la serie neutrófila se muestran en la figura 1.13.

Los *granulocitos segmentados eosinófilos* fueron descritos hace aproximadamente un siglo por Ehrlich, al observar en la sangre periférica la existencia de unas células que contenían

Anomalía	Descripción	Morfología	Asociación a patología
I. Alteraciones de tamaño:			
Anisocitosis	Desigualdad en el tamaño de los hematíes		Inespecífico, aunque constante en los enfermos transfundidos
Microcitosis	Predominio de hematíes de diámetro < 6 µm y volumen < 80 fL		Anemia ferropénica. Talasemia. Anemia de enfermedades crónicas. Hipertiroidismo. Déficit de PK
Macrocitosis	Predominio de hematíes de diámetro entre 8-11 µm y volumen > 100 fL		Déficit de factores madurativos (vitamina B_{12}, ácido fólico), hepatopatías crónicas, síndromes mielodisplásicos, eritroblastosis fetal
Megalocitosis	Predominio de hematíes de diámetro ≥ 12 µm y volumen > 100 fL		Anemias megaloblásticas (A. perniciosa)
II. Alteraciones de la forma (poiquilocitosis):			
Esquistocitos	Hematíes fragmentados de 2-3 µm		Carcinomas, uremia, coagulación intravascular diseminada, hemangiomas, quemaduras graves, hemoglobinuria de la marcha. Prótesis valvulares. Anemia hemolítica microangiopática
Dacriocitos	Hematíes con una proyección elongada en un polo (forma de pera, lágrima)		Anemias graves, metaplasia mieloide agnogénica
Esferocitos	Hematíes de forma esférica sin aclaramiento central		Esferocitosis hereditaria o ictericia hemolítica constitucional, postesplenectomía, anemia hemolítica autoinmune. Quemaduras graves, picaduras de insectos
Ovalocitos	Hematíes en forma de óvalo		Inespecífico, anemia megaloblástica
Eliptocitos	Hematíes en forma elíptica		Inespecífico, eliptocitosis hereditaria, anemias megaloblásticas, ferropenias, talasemias
Drepanocitos	Hematíes falciformes		Hemoglobinopatías y en otros tipos de hemoglobinopatías (C-Harlem Memphis-S)
Codocitos o hematíes en diana	Hematíes con un área con mayor contenido de hemoglobina que se sitúa en la zona central clara		Taiasemía (enfermedad de Cooley), hemoglobinopatía C, postesplenectomía y en anemias ferropénicas muy graves (dianas microcíticas). Hepatopatías, déficit de lecitincolesterol-aciltransferasa (LcAT)
Estomatocitos	Hematíes que en su región central clara poseen una hendidura en forma de boca		Estomatocitosis hereditaria, cirrosis hepática, hepatopatía alcohólica, anemias hemolíticas por autoanticuerpos
Hematíes espiculados:			
a) Equinocitos o hematíes crenados	Hematíes con espículas cortas distribuidas regularmente por toda la superficie		Déficit de piruvatocinasa, uremia, hepatopatías neonatales, carcinomas gástricos, úlcera péptica, sangre conservada
b) Keratocitos o hematíes en casco	Presentan dos proyecciones en forma de espículas con forma de casco o de sombrero de polichinela		Uremia, hemólisis por valvulopatía cardíaca, hemangioma cavernoso, neoplasias, anemia hemolítica microangiopática
c) Acantocitos o *spur cells*	Hematíes con perfil dentellado y espinoso con espículas (3-12 y de distinta longitud)		Alfa/beta lipoproteinemia congénita, hepatopatías, postesplenectomía, administración de heparina, mielofibrosis aguda y crónica
d) Excentrocitos	Hematíes con distribución anormal de la hemoglobina. Se dispone como despegada de la parte interna de la membrana y concentrada en uno de sus extermos		Déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, anemia hemolítica

Figura 1.9. Anomalías morfológicas eritrocitarias. (*Continúa*)

Anomalía	Descripción	Morfología	Asociación a patología
III. Alteraciones de la colaboración de la hemoglobina:			
Hipocromía	Hematíes que se tiñen débilmente		Anemias ferropénicas
Policromasia	Hematíes jóvenes que conservan parte de material basófilo del eritroblasto y se tiñen de color gris		Situación de inmadurez celular
IV. Inclusiones eritrocitarias:			
Corpúsculos de Howell-Jolly	Corpúsculos redondos únicos o múltiples de 1 µm de diámetro de color rojo violáceo		Postesplenectomía, atrofia esplénica, saturnismo, anemias megaloblásticas y hemolíticas
Anillos de Cabot	Línea muy fina en forma de anillo de color rosado		Carecen de especificidad, aunque su presencia traduce trastorno profundo de la eritropoyesis
Punteado basófilo	Agrupados de color azul grisáceo		Saturnismo, anemias hemolíticas, síndromes mielodisplásicos, leucemias, carcinomas, déficit de pirimidina-5' nucleotidasa
Cuerpos de Pappenheimer	Gránulos azul negruzco		Situaciones de gran sobrecarga férrica
Reticulocitos*			
Cuerpos de Heinz*	Esférulas azules (tinción vital)		Regeneración medular, alfa talasemia, hemoglobinopatías inestables, anemias hemolíticas enzimopénicas
Siderocitos*	Gránulos verdes (tinción Perls)		Postesplenectomía, anemias sideroacrésticas, aplasias y hemolíticas. Sobrecarga férrica
Parásitos			Paludismo. Babesia. *Bartonella baciliformis*

*Sólo se visualizan con tinciones vitales.

Figura 1.9. Anomalías morfológicas eritrocitarias (*Cont.*).

unos gránulos muy brillantes. A estas células las denominó eosinófilos, del griego *Eos*, la diosa del amanecer. Los eosinófilos tienen un tamaño semejante al de los neutrófilos, y se caracterizan morfológicamente por contener en su citoplasma gránulos acidófilos; éstos tienen una forma redondeada, su tamaño oscila entre 0,5 y 1,5 µm, ocupan todo el citoplasma de la célula, se tiñen de color naranja o marrón anaranjado (fig. 1.14) con las coloraciones panópticas, y son muy refringentes. Mediante el estudio ultraestructural de los gránulos específicos se observa un núcleo cristaloide electrodenso, constituido predominantemente por proteína mayor básica, y rodeado de una matriz rica en proteína catiónica. Estos gránulos representan el 95% de la granulación en los eosinófilos maduros, y son el distintivo característico de este granulocito. Los eosinófilos contienen, además, una granulación primaria y unos gránulos pequeños. La granulación primaria aparece en el promielocito, y persiste en todos los estadios madurativos. Esta granulación es rica en peroxidasa eosinófila y en proteína de Charcot-Leyden. Los gránulos pequeños contienen enzimas hidrolíticas, como la fosfatasa ácida y la arilsulfatasa, y pueden contener catalasa. Cabe recordar que los eosinófilos tienen cuerpos lipídicos que, en ocasiones, pueden confundirse con gránulos. A diferencia de los gránulos basófilos, los eosinófilos nunca se disponen por encima del núcleo. Citoquímicamente, se caracterizan por poseer gran cantidad de mieloperoxidasa, fosfatasa ácida y arilsulfatasa. La peroxidasa posee características diferenciales con respecto a la peroxidasa de la serie neutrófila. Poseen, asimismo, un

Célula	Tamaño celular	Núcleo	Nucléolos visibles	Tinción citoplasma	Granulación
Mieloblasto	15-20 µm	– Redondo – Cromatina laxa	2 o 3	Basófilo	Ausente
Promielocito	12-16 µm	– Redondeado – Posición algo excéntrica – Cromatina semidensa	1 o 0	Basófilo	Primaria (azurófila)
Mielocito	13-18 µm	– Redondeado – Cromatina condensada	No	Poco basófilo	– Abundante: azurófila y específica (secundaria)*
Metamielocito	12-15 µm	– Reniforme – Cromatina condensada	No	Poco basófilo	– Abundante: azurófila y específica*
Cayado o banda	12-14 µm	– Banda – Cromatina condensada	No	Poco basófilo	– Abundante: azurófila y específica*
Polisegmentado	12-14 µm	– Segmentado: 2 o 3 lóbulos unidos por finos puentes de cromatina – Cromatina condensada	No	Poco basófilo	– Abundante: azurófila y específica*

*Neutrófila, eosinófila o basófila.

Figura 1.10. Características morfológicas de las células de la línea granulocítica.

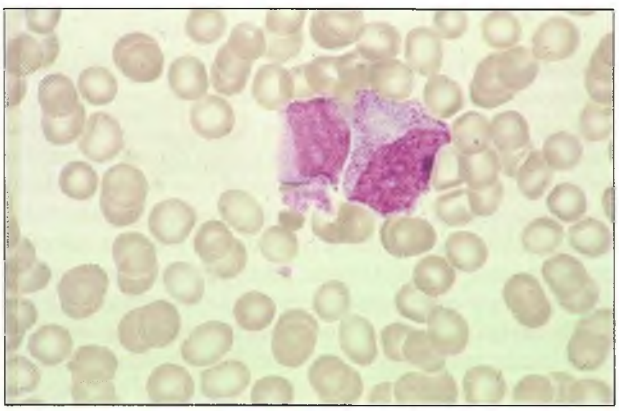


Figura 1.11. Mieloblasto y promielocito (May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

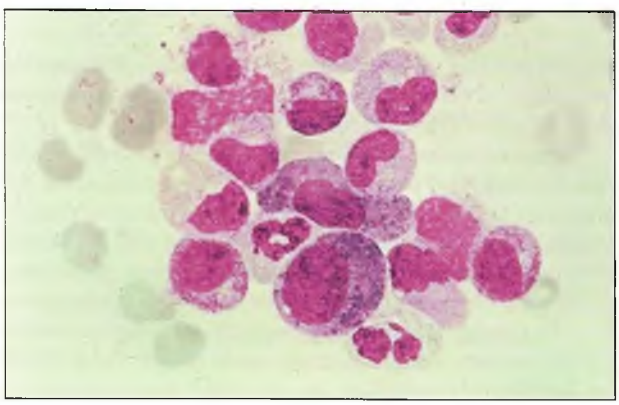


Figura 1.12. Varios elementos semimaduros y maduros de la línea granulopoyética neutrófila (May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

alto contenido en fosfolipasa y lisofosfolipasa. Por el contrario, están desprovistos de fosfatasa alcalina y de lactoferrina.

Los *granulocitos segmentados basófilos* o basófilos hemáticos derivan de una célula germinal comprometida hacia la granulopoyesis basófila. A diferencia de los basófilos tisulares o mastocitos o células cebadas, son células redondeadas, cuyo tamaño oscila entre 10 y 13 µm. El núcleo de cromatina densa posee, generalmente, dos o tres lóbulos unidos por puentes cromatínicos, en ocasiones difíciles de visualizar, dada la presencia de numerosos gránulos basófilos propios de esta célula. Estos gránulos basófilos se disponen encima del núcleo (fig. 1.15). La granulación basófila, cuyo tamaño varía entre 0,2 y 1 µm, adquiere una coloración rojo violeta oscura con las tinciones panópticas, y tiene una forma poligonal. En ocasiones, los gránulos basófilos se disponen en el interior de vacuolas citoplásmicas, imagen óptica que traduce la disolución parcial de estos gránulos tras las maniobras de fijación. La característica principal de los gránulos basófilos es su metacromasia con los colorantes vitales (azul de metileno, azul de toluidina), con los que adquiere una tonalidad rojiza, mientras que el resto de las estructuras celulares se tiñen de color azul. La metacromasia se debe a la gran riqueza de estos gránulos en proteoglucanos sulfatados, heparina y en condroitín-4-sulfato, los cuales proporcionan la base para el almacenamiento de las proteínas granulares, como la histamina y las proteasas. Los basófilos, a diferencia de algunas células cebadas, no contienen triptasa.

Tanto los basófilos como los mastocitos tienen una gran afinidad para el receptor de la IgE, característica específica de estos dos tipos celulares. Los basófilos carecen del recep-

TABLA 1.3

Esquema de maduración de los linfocitos T definida por marcadores inmunológicos y moleculares

Etapa	Antígeno independiente		Antígeno dependiente			
Órgano	Médula ósea		Timo			Sangre periférica Tejidos linfoides
	Célula progenitora linfoide	Protimocito	Timocito inmaduro (cortical blástico)	Timocito maduro o Timocito pre-T (cortical pequeño)	Timocito maduro (medular)	Linfocitos T maduros: colaboradores y supresores
Reordenamiento de los genes TCR			δ γ β α			
TdT	+	+	+	+	–	–
Expresión de moléculas	CD34 HLA-DR	CD34 HLA-DR CD7 CD2 CD45RA	CD34 CD3ci (débil) CD7 CD2 CD5 CD38	CD7 CD2 CD5 CD3ci CD1 CD4/CD8 γδTCR/ αβTCR	CD7 CD2 CD5 CD3m CD4 o CD8 γδTCR/ αβTCR	CD7 CD2 CD5 CD45 RA CD4* o CD8** CD3 γδTCR/ αβTCR

TCR: receptor de célula T; CD3ci: CD citoplasmático; TdT: deoxinucleotidiltransferasa terminal.
*70-75% de los linfocitos, población colaboradora.
**25-30% de los linfocitos, población supresora.

tor para el factor *c-kit*, a diferencia de los mastocitos que sí lo presentan, ya que para su desarrollo requieren la presencia del *c-kit* o factor de crecimiento de la *stem cell*.

El inmunofenotipo de la línea neutrófila se asocia con la pérdida de reactividad para el antígeno CD34 y la adquisición del antígeno CD15 en la fase de mieloblasto. El mielocito presenta CD11b, y el metamielocito adquiere CD14 y CD16. A medida que se adquieren estos últimos antígenos, se pierden CD33 y CD34, y son muy débiles en la fase de polisegmentados. En ocasiones, los polisegmentados pueden presentar CD10. Los cambios que se producen en la diferenciación de los basófilos y eosinófilos son los siguientes: los basófilos maduros son positivos para los antígenos CD33, CD13, CD11b y CD38; débilmente positivos para CD14 y CD16, y no presentan positividad para CD15 ni para HLA-DR. Los eosinófilos son débilmente positivos para los antígenos CD33, CD13, CD16 y CD38; positivos para CD15 y CD11b, y no presentan reactividad para CD14 y HLA-DR. Tanto los basófilos como los eosinófilos expresan para el antígeno CD45 idéntica reactividad a la que presentan los neutrófilos[13,16-18] (fig. 1.3).

El origen clonal hematopoyético del *mastocito* o *célula cebada* fue indicado por Zucker-Franklin[44], al observar células con coexistencia de la típica granulación basófila y de mastocitos, en algunos síndromes mieloproliferativos crónicos, reforzando la hipótesis de considerar al mastocito como el representante tisular del basófilo. El mastocito y el basófilo tienen un progenitor mieloide común[37]. Como se ha indicado, los precursores comprometidos abandonan la médula ósea, de forma que el microambiente de los tejidos determina el desarrollo de propiedades diferenciales entre las células cebadas y los basófilos. Ambos tipos celulares intervienen en fenómenos de hipersensibilidad, secretando moléculas proinflamatorias, como la histamina y las citocinas, entre otras.

El mastocito, descrito por Ehrlich, es una célula ampliamente distribuida en la piel, en los tractos digestivo y respiratorio, los ganglios linfáticos y la médula ósea, donde adopta preferentemente una situación perivascular. Algunas células cebadas ofrecen un contorno redondeado, mientras que otras presentan una forma alargada, en cometa, de modo que el núcleo ocupa una situación central o excéntrica. Rara vez contienen nucléolos y su cromatina, generalmente, está bastante condensada. La granulación es muy abundante (aproximadamente, 900 gránulos por célula) y gruesa, y constituye la organela más representativa de esta célula. Suele disponerse también sobre el núcleo que, en ocasiones, llega a ocultar; es intensamente metacromática, y posee características diferenciales con la granulación de los basófilos (fig. 1.16). Su aspecto ultraestructural es inconfundible.

Serie monocítica

Las células monocíticas pertenecen al sistema mononuclear fagocítico[45], cuyo origen mieloide está bien establecido. La forma más joven de esta línea es el *monoblasto*, célula de identificación morfológica incierta. Le sigue el *promonocito*, de reconocimiento morfológico inequívoco; éste, en su paso hemoperiférico, se transforma en monocito. El monocito tiene un núcleo no segmentado de perfil variable, puede ser oval, redondo y/o con incisuras. El citoplasma es abundante, de color azul-gris, y contiene una fina granulación azurófila. El monocito abandona la sangre periférica y, finalmente, se instala en los tejidos en forma de *histiocito* y *macrófago*[45] (figs. 1.17 y 1.18). De este modo, las células del sistema mononuclear

Anomalía	Descripción	Morfología	Asociación a patología
I. Alteraciones nucleares:			
Anomalía constitucional de Pelger-Huët	Leucocito con relativa ausencia de segmentación. Queda configurado en forma de banda o en 2 segmentos		Anomalía congénita. Seudo-Pelger en: enfermedades infecciosas, anemia aplásica, anemia perniciosa, síndromes mielodisplásicos y mieloproliferativos crónicos, leucemias mieloblásticas
Núcleos en anillo	Hiposegmentación nuclear con un gran agujero central (forma de donut)		Síndromes mieloproliferativos crónicos y mielodisplásicos. Leucemias agudas, alcoholismo crónico. Mononucleosis
Hipersegmentación nuclear	Polinucleares con 4 o más segmentos		Anemias megaloblásticas, renales y ferropénicas, sindromes mielodisplásicos
Pleocariocito	Hipersegmentación nuclear más gigantismo celular		Anemias megaloblásticas
II. Alteraciones del citoplasma:			
Granulación tóxica	Granulación primaria que se tiñe de forma pronunciada		Infecciones, carcinomatosis generalizada, quemaduras
Desgranulación	Neutrófilo sin granulación aparece azulado y agranular		Indicativo de hemopatía grave, leucemias agudas mieloides. Síndromes mielodisplásicos y mieloproliferativos crónicos
Anomalía de Alder-Reilly	Granulaciones groseras color violeta*		Suele asociarse a una mucopolisacaridosis
Anomalía de Steinbrinck Chediak-Higashi	Gránulos en forma de inclusiones azules oscuras de 3 a 9 µm		Alteración de carácter hereditario
Cuerpos de Döhle	Inclusiones basófilas y ovaladas o rectangulares		Sepsis, escarlatina, erisipela, difteria, quemaduras, síndromes mielodisplásicos y mieloproliferativos crónicos
Bastones de Auer	Estructuras azurófilas en forma de bastoncillo, de puntas afiladas (en neutrófilos y en blastos)		Leucemia aguda mieloide, síndrome mielodisplásico

*Afectan a basófilos, eosinófilos, linfocitos y monocitos.

Figura 1.13. Anomalías morfológicas de los granulocitos neutrófilos.

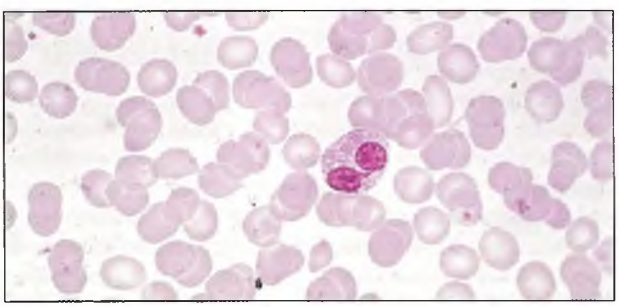


Figura 1.14. Granulocito eosinófilo (May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

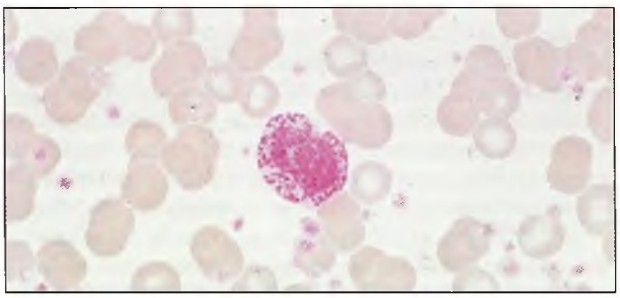


Figura 1.15. Granulocito basófilo (May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

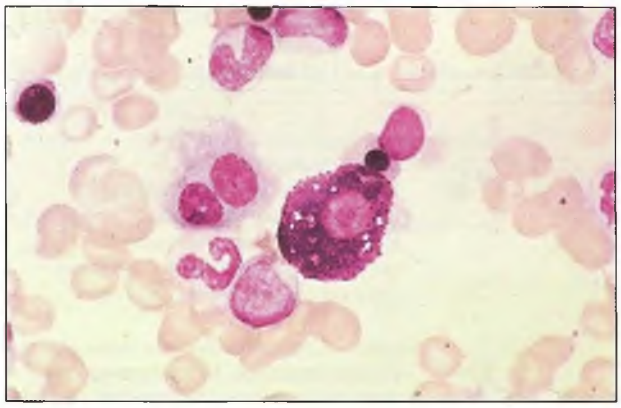


Figura 1.16. Mastocito (May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

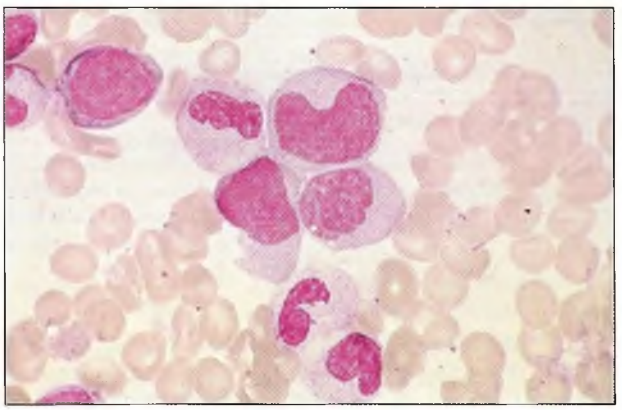


Figura 1.18. Promonocito y monocito (May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

fagocítico tienen localización, aspecto morfológico y función diferentes, según su estadio madurativo y ubicación.

Citoquímicamente, estas células se caracterizan por su riqueza en esterasas inespecíficas (naftol-As-D-acetatoesterasa, alfanaftilacetatoesterasa ácida y butiratoesterasa), que se inhiben casi totalmente con el fluoruro sódico. Asimismo, son ricas en fosfatasa ácida, lisozima, betaglucuronidasa, catepsina y arilsulfatasa. La actividad peroxidásica es débil, y se ubica en la granulación primaria de los monocitos. A diferencia de la granulopoyesis neutrófila, los monocitos son negativos a la naftol-As-D-cloroacetatoesterasa; tampoco contienen fosfatasa alcalina ni lactoferrina.

Los *macrófagos* son histiocitos que contienen en su interior restos de material fagocitado. Son fáciles de identificar y se observan con frecuencia en la médula ósea, en los ganglios linfáticos y en el bazo, entre otras localizaciones. En circunstancias patológicas, los macrófagos se transforman, y adoptan diversos aspectos morfológicos (células gigantes de Langhans, células de cuerpo extraño y células epitelioides). Estas modificaciones morfológicas traducen, sin duda, ciertas actividades funcionales inducidas por tóxicos químicos o bacterianos.

En condiciones normales, los histiocitos pueden ofrecer una variada expresividad morfológica, según el tejido en el que estén ubicados. Configuran las células de Kupffer en el hígado, los macrófagos de los alvéolos pulmonares, los macrófagos de las cavidades serosas, los osteoclastos de la médula ósea y la microglia en el sistema nervioso central.

Célula	Tamaño celular	Núcleo	Nucléolos visibles	Citoplasma
Monoblasto	15-25 µm	– Grande y redondo – Cromatina laxa	5	Abundante, basofilia intensa (azul plomizo)
Promonocito	15-20 µm	– Contorno irregular con pliegues – Cromatina poco condensada	0-1	Abundante, basófilo, fina granulación azurófila
Monocito	15-30 µm	– Central – Irregular con pliegues (adopta formas abigarradas) – Cromatina densa de aspecto «como peinado» en finas franjas	No	Abundante, granulación azurófila, en ocasiones, pequeñas vacuolas
Histiocito*				

*Adopta distintos aspectos morfológicos dependiendo del órgano o tejido donde finalmente se ubique.

Figura 1.17. Características morfológicas de las células constituyentes de la línea monocítica.

Los histiocitos y los macrófagos son muy ricos en hidrolasas ácidas (fosfatasa ácida, betaglucuronidasa, alfanaftilacetatoesterasa ácida) y esterasas inespecíficas, en adaptación a su intensa capacidad digestiva, por lo que deben considerarse como fagocitos profesionales. También contienen muramidasa, proteasas neutras, inhibidores enzimáticos como la alfa-2-macroglobulina, factor quimiotáctico de los neutrófilos y ciertas proteínas, como fibronectina, transcobalamina II, etc. Habitualmente no contienen peroxidasa.

A diferencia de lo que sucede con otras líneas hematopoyéticas, los conocimientos fenotípicos de la diferenciación monocítica son relativamente escasos. Cuando la célula progenitora monocítica CD34+ adquiere CD33 y CD4, se cree que indica diferenciación monocítica. Cuando madura, pierde el CD34 y adquiere el CD11b, el CD14 y el CD68 y, finalmente, expresa débilmente el CD15 y el CD16. La expresión del CD14 en la línea monocítica se incrementa, a la vez que las células aumentan la intensidad de expresión del CD45 en su membrana[17,18] (fig. 1.3).

La *célula dendrítica* es otra de las células a las que se atribuye un origen mieloide común con el monocito-macrófago, aunque existe evidencia de un progenitor linfoide común para células dendríticas, linfocitos B, linfocitos T y células NK (*natural killer* o células agresoras naturales)[46-49]. Se reconocen varios tipos de células dendríticas que constituyen una población celular heterogénea. Las células dendríticas son unas inductoras potentes de la respuesta inmune T primaria mediante la estimulación de los linfocitos T vírgenes. Son células con una gran capacidad para presentar antígenos, y escasa o nula capacidad fagocítica. Cuando son activadas, migran desde los tejidos hacia los órganos linfoides secundarios, donde interaccionan con los linfocitos T e inician la respuesta inmune[46,47]. Se localizan en casi todos los tejidos, y reciben distintas denominaciones según su ubicación. Se han identificado tres grandes poblaciones de células dendríticas: la célula de Langerhans, la célula dendrítica intersticial y la célula dendrítica madura estimulada. La *célula de Langerhans* se localiza principalmente en la piel, los ganglios linfáticos y el tracto gastrointestinal. Su principal función es captar y procesar el antígeno, y transportarlo a los ganglios linfoides. Expresa CD1a, el antígeno asociado cutáneo (CLA), E-cadherina y el antígeno Lag, asociado a los gránulos de Birbeck. La *célula dendrítica intersticial* se localiza en distintos órganos, especialmente en hígado, riñón y corazón. La célula dendrítica intersticial y la célula de Langerhans recogen los antígenos en los tejidos periféricos como respuesta a estímulos inflamatorios, y migran hacia los órganos linfoides a través de los vasos linfáticos. La *célula dendrítica madura estimulada* representa el último estadio de la diferenciación de la célula dendrítica intersticial y la célula de Langerhans. Expresa los antígenos CD1a y CD83. Es intensamente positiva para MHC de clase I y II, y es responsable de presentar los antígenos a las células T, localizándose en la zona T del ganglio (*célula dendrítica interdigitante* o *reticular interdigitante*). En los folículos linfoides, la célula dendrítica (*célula dendrítica folicular*) presenta los antígenos a las células B y colabora en el mantenimiento de la memoria inmunológica. En sangre periférica la célula dendrítica es migratoria, como la que circula por los vasos linfáticos aferentes (célula dendrítica con velos o *veiled cells*). En sangre periférica se reconocen, a la vez, dos tipos que se caracterizan por su intensa positividad para HLA-DR y CD4, y negatividad para CD14 y antígenos de línea T, B y NK[47], y un tercer tipo con reactividad fuerte para HLA-DR, CD4 y CD16 y débil para el CD14. La morfología y el fenotipo de la célula dendrítica varían según su ubicación y estado funcional (célula con velos *versus* célula dendrítica). Son células de gran tamaño, con largas prolongaciones citoplasmáticas. El núcleo suele ser excéntrico, con un pequeño nucléolo. En ocasiones, presentan dos núcleos adosados (*kissing cells*). Una de las características más destacables de la célula de Langerhans es la presencia en su citoplasma de los cuerpos de Birbeck, que se detectan con el estudio ultraestructural.

El fenotipo característico de la célula dendrítica es la positividad para HLA-DR y los antígenos CD1a, CD80, CD83, CD86, CD40 y la proteína S100. No expresan los antígenos propios de los macrófagos. Las células dendríticas de sangre periférica carecen del antígeno CD1a, y representan menos del 1% de las células mononucleadas[46-49].

Serie megacariocítica plaquetaria

La serie megacariocítica está formada por un conjunto de células de origen medular. Se forman a partir de una célula progenitora común con el resto de las células mieloides (CFU-GEMM) y dan origen a las plaquetas halladas en la sangre periférica. Habitualmente, se distinguen distintos estadios evolutivos: el promegacarioblasto, el megacarioblasto, el promegacariocito, el megacariocito granular formador de plaquetas y el megacariocito desprendedor de plaquetas (figura 1.19). El megacariocito, al desprender parcelas citoplásmicas delimitadas por las membranas de demarcación, como se ha demostrado ultraestructuralmente, origina las plaquetas de la sangre periférica.

En la serie megacariocítica, a diferencia de lo que sucede en el resto de las células hematopoyéticas, las divisiones nucleares no van seguidas de las correspondientes divisiones citoplásmicas, hecho que conduce a la formación de células poliploides de gran tamaño con numerosos núcleos. En el estadio de megacarioblasto se suceden en número variable las mitosis nucleares, apareciendo las sucesivas ploidías nucleares. Ello va acompañado, gracias a una elevada síntesis de DNA, de un aumento de la talla nuclear. El 50% de los megacariocitos normales tienen una ploidía de 8 N (intervalo: 4-32 N). Finalizada esta etapa de síntesis de DNA y duplicación nuclear, se inicia en el citoplasma la granulogénesis, que dará origen a las futuras plaquetas sanguíneas[50].

El *promegacarioblasto*, célula precursora del megacarioblasto, no tiene identificación morfológica precisa; es el único estadio evolutivo de la megacariopoyesis que puede presentar una mitosis completa y otra incompleta (endomitosis). Es un elemento de aspecto mononucleado, muchas veces seudolinfoide, que precisa, para su filiación certera, la detección ultraestructural de la reacción de la peroxidasa plaquetaria o de anticuerpos monoclonales específicos de esta línea mieloide, como el CD61 y el CD41. El resto de componentes celulares de la serie megacariocítica presenta rasgos distintivos morfológicos característicos. El *megacarioblasto* es una célula que suele presentar un núcleo bilobulado de cromatina poco condensada, con varios nucléolos. El citoplasma es basófilo y agranular y, en ocasiones, presenta protrusiones citoplasmáticas. El megacarioblasto por endomitosis llega a alcanzar su ploidía definitiva (fig. 1.20).

El *promegacariocito* o *megacariocito basófilo* presenta un núcleo multilobulado de cromatina densa, sin nucléolos visibles. El citoplasma es intensamente basófilo, con granulación azurófila incipiente.

Célula	Tamaño celular	Morfología nuclear	Citoplasma	
			Tinción	Granulación
Megacarioblasto	15-50 µm	Compacto (lobulado)	Basófilo	Escasa
Promegacariocito	20-80 µm	Herradura	Basofilación área central acidófila	Aumentando
Megacariocito granular	50-80 µm	Multilobulado	Progresivamente más acidófilo que basófilo	Abundante
Megacariocito maduro liberador de plaquetas	20-150 µm	Compacto, pero altamente lobulado	Acidófila	Abundante, organizada en campos plaquetarios
Plaqueta	2-3 µm	Ausente	Zona periférica hialina (hialómero)	Granulación azurófila de localización central (forman el cromómero)

Figura 1.19. Características morfológicas de las células constituyentes de la línea celular megacariocítica reconocibles con tinción panóptica.

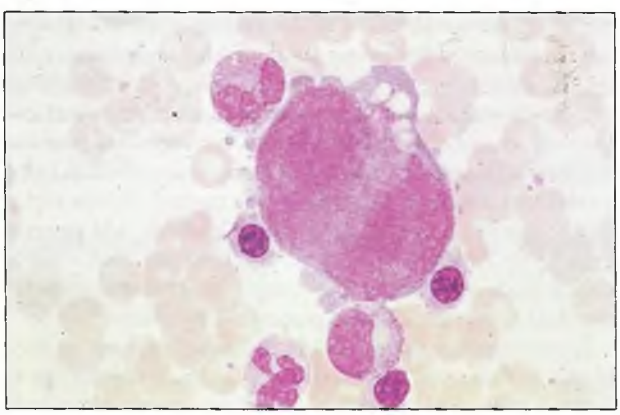


Figura 1.20. Megacarioblasto (May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

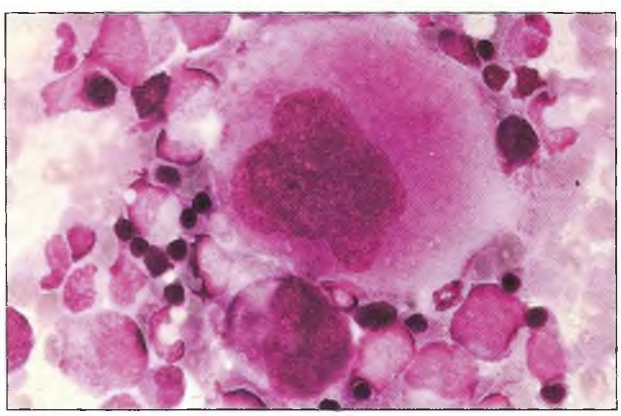


Figura 1.21. Megacariocito maduro formador de plaquetas (May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

El *megacariocito granuloso* presenta un núcleo de cromatina muy condensada, con varios núcleos unidos entre sí. El citoplasma presenta abundante granulación.

El *megacariocito maduro formador de plaquetas* es semejante al granuloso, del que difiere por presentar zonas citoplasmáticas con una granulación que se agrupa y queda rodeada por una zona más amorfa. Estas áreas se desprenden para formar las plaquetas en forma de proplaqueta. Cada megacariocito puede dar origen a unas seis proplaquetas y éstas, a su vez, a unas 1.200 plaquetas. El megacariocito, una vez ha desprendido todo el citoplasma, queda con el núcleo desnudo, que es fagocitado por los macrófagos medulares (fig. 1.21).

Las *plaquetas* o *trombocitos*, desprendidos del citoplasma de los megacariocitos adultos, pasan a la sangre periférica, donde ejercen sus funciones en los mecanismos de coagulación y hemostasia. Los trombocitos son los elementos formes de la sangre de menor tamaño (2-3 µm), y están desprovistos de núcleo, por lo que no son verdaderas células sino fragmentos celulares. En los frotis se observan con frecuencia en forma de aglomerados, debido a su gran capacidad de agregación. En las plaquetas se distinguen ópticamente dos zonas delimitadas con claridad, debido a la tendencia a la agrupación de sus organelas: una zona central, en la que se disponen los distintos tipos de gránulos y otras organelas, denominada cromómero; y otra zona periférica, hialina e incolora, desprovista de organelas, denominada hialómero.

Los gránulos específicos de las plaquetas son los gránulos en ojo de buey, de identificación exclusiva ultraestructural,

también denominados gránulos alfa, que contienen diversos tipos de proteínas: *a*) factor plaquetario 4, factor plaquetario de crecimiento de fibroblastos (PDGF); *b*) fibrinógeno, factor V y factor VIII/Von Willebrand, y *c*) otras proteínas, como la trombospondina, la fibronectina, la albúmina, la alfa-1-antitripsina y la alfa-2-macroglobulina.

Un segundo tipo de gránulos, minoritarios en relación a los primeros, de identificación también submicroscópica, son los cuerpos densos, que contienen calcio, serotonina, ADP y ATP. Los trombocitos contienen gran cantidad de enzimas de localización lisosómica, como fosfatasa ácida, betaglucuronidasa, arilsulfatasa y N-acetil-betaglucosaminidasa. La cantidad de glucógeno que contienen también es elevada. Los trombocitos permanecen en la sangre periférica durante 8-12 días, después de los cuales son destruidos en el bazo por las células del sistema mononuclear fagocítico. Las plaquetas reticuladas son jóvenes, con abundante contenido de RNA. Esta población es el equivalente de los reticulocitos en la serie eritroide.

La identificación de los elementos megacariocíticos maduros o semimaduros es muy sencilla por simples criterios morfológicos; sin embargo, los precursores megacariocíticos (promegacarioblastos) precisan de la reacción de la peroxidasa plaquetaria ultraestructural y de la detección de glucoproteínas de superficie, mediante los anticuerpos monoclonales CD41, CD42, CD61 o de anticuerpos dirigidos contra el factor VIII o el factor plaquetario 4.

Generalmente, el primer marcador que aparece es la peroxidasa plaquetaria, que se anticipa a la presentación de las membranas de demarcación, o los gránulos en ojo de buey, orgánulos sólo detectables ultraestructuralmente. A éstos les sigue la glucoproteína IIIa (CD61), la IIb/IIIa (CD41) y la Ib (CD42). Todos estos marcadores persisten a lo largo del eje madurativo megacariocítico (fig. 1.3).

Células de la matriz ósea

Entre las células de la estroma medular se incluyen los fibroblastos, los adipocitos, las células dendríticas y los macrófagos. Los osteoblastos y los osteocitos forman una matriz ósea, aunque a los osteoblastos se les reconoce funciones de célula de la estroma medular.

Las células de la matriz ósea pueden hallarse accidentalmente en los frotis medulares, y no deben confundirse con las células medulares propiamente dichas o con células metastásicas.

Los *osteoblastos* son células ovoides de tamaño comprendido entre 25 y 30 µm, que suelen disponerse en cúmulos de 3 a 5 elementos. Su citoplasma es azulado, y pueden contener algunos gránulos azurófilos. El núcleo es único y excéntrico, con una cromatina moteada en finas trabéculas y algunos nucléolos. El arcoplasma, en caso de ser visible, no se halla junto al núcleo, ya que una franja citoplasmática se interpone entre ambas organelas, a diferencia de lo que acontece en la célula plasmática, con la que puede ser confundido (fig. 1.22). Son las células formadoras de hueso, y su origen es mesenquimal[51-53]. Los osteoblastos son ricos en fosfatasa alcalina, y tienen receptores para la vitamina D_3. Bajo la acción de dicha vitamina, secretan osteocalcina, proteína no colágena que actúa en la formación de los osteoclastos.

El osteocito es otro componente celular de la trabécula ósea procedente de la maduración del osteoblasto, reconocible sólo en biopsias. Dada su ubicación intraósea, es una célula que no se halla en un aspirado medular.

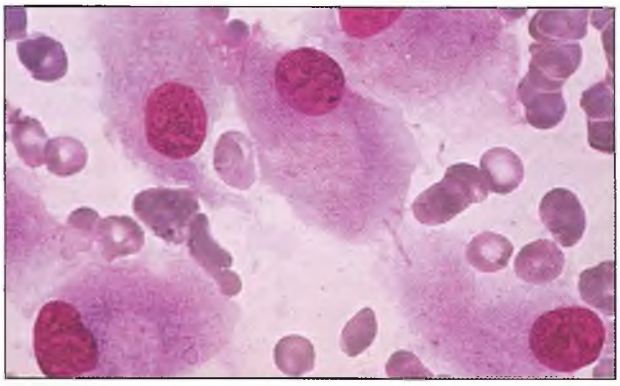


Figura 1.22. Osteoblastos (May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

Los *osteoclastos* tienen un origen hematopoyético y derivan, junto con los monocitos, de una célula hematopoyética común[51-53]. Ambos tienen una célula progenitora específica, que para el osteoclasto es el proosteoclasto. Son células gigantes, cuyo tamaño aproximado es de 100 µm, con límites imprecisos, que se forman por fusión de varios proosteoclastos. Su formación puede acelerarse mediante un mecanismo dependiente del sistema hormonal. El citoplasma, ligeramente basófilo o acidófilo, es finamente granuloso y puede contener un número variable de granulaciones azurófilas. Se observan varios núcleos totalmente individualizados, en número de 10 a 20, que forman una frecuente agrupación polar, por lo que el aspecto de estas células se ha comparado al ofrecido por un «saco de nueces», cromatina ordinariamente condensada y con un nucléolo único (fig. 1.23). El proosteoclasto y el osteoclasto son ricos en fosfatasa ácida resistente al tartrato, de forma que esta reactividad proporciona un marcador de la línea osteoclástica. La especialización del osteoclasto en la misión de la remodelación ósea es la que le confiere la resistencia al tartrato de la fosfatasa ácida. El osteoclasto también tiene receptores para la calcitonina y la vitronectrina proteasa activada por el complemento. Son CD14, CD11b y CD11c negativos[51-53].

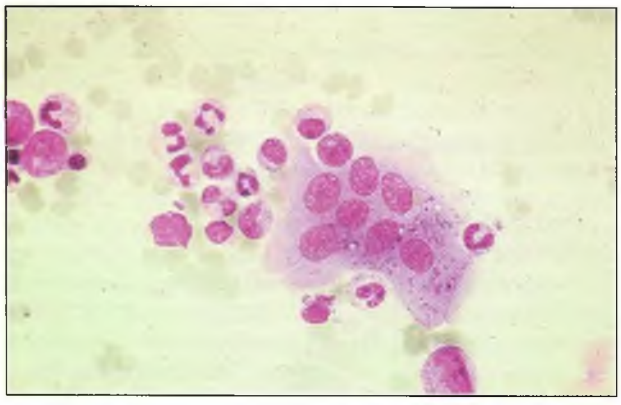


Figura 1.23. Osteoclasto (May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

Linfopoyesis

Sistema linfoide

El sistema linfoide normal está formado por los órganos linfoides primarios o centrales y los órganos linfoides secunda-

rios o periféricos. En el hombre adulto, la médula ósea y el timo desempeñan la función de órganos primarios. En éstos se originan los linfocitos B y T a partir de la célula madre hematopoyética pluripotente y, posteriormente, maduran sin requerir la presencia de antígenos. Los linfocitos que maduran en la médula ósea se denominan linfocitos B (B de *bursa de Fabricius*, órgano linfoide de las aves donde se originan los linfocitos B), y son los responsables de producir anticuerpos como respuesta al estímulo antigénico. Los que maduran en el timo se denominan linfocitos T (T de timo), y son los responsables de las respuestas inmunes producidas por las células. Los órganos linfoides secundarios engloban los ganglios linfáticos, el bazo y el tejido linfoide asociado a mucosas, piel y tubo digestivo, donde se inician las respuestas inmunes. En los órganos linfoides secundarios, los linfocitos hallan el ambiente adecuado para poder interaccionar con los antígenos y las células accesorias del sistema linfoide o células presentadoras de antígeno. Éstas pertenecen al sistema mononuclear fagocítico, y reciben denominaciones distintas según el tejido donde residen: células de Langerhans en la piel, células dendríticas foliculares en los ganglios, etc.

El proceso de diferenciación del sistema linfoide T y B se produce en dos fases: una antígeno independiente y otra antígeno dependiente. La primera tiene lugar en la médula ósea y en el timo, en ausencia de estimulación antigénica. Esta fase acontece en la vida fetal y en los primeros días de la vida humana, dando lugar a un reservorio de linfocitos capaces de responder a la acción de los antígenos (células T y B vírgenes). En esta primera etapa las células son células madre (*stem cells*) y blastos linfoides con capacidad de autorrenovarse, mientras que en las fases más avanzadas las células están en reposo, con una vida media muy larga que puede oscilar desde semanas a años. Las células vírgenes, cuando se exponen a los antígenos, sufren una transformación blástica y pasan a ser células grandes, proliferantes, que dan lugar a células capaces de responder directamente a la acción antigénica: células efectoras antígeno-específicas.

El *ganglio linfático* consta de una cápsula de tejido conjuntivo a partir de la cual se forman septos que dividen al ganglio en distintos compartimentos formados por un seno subcapsular, varios senos medulares, folículos linfoides y cordones linfáticos, un sistema vascular sanguíneo y linfático, así como un armazón formado por células reticulares (fig. 1.24a).

La estructura típica de un ganglio consiste en una capa más externa o *corteza* o zona B, una capa intermedia o *paracorteza* o zona T y una capa interna o *médula* con cordones dirigidos hacia el hilio. En la corteza se observan unas estructuras redondeadas que son colonizadas por los linfocitos B vírgenes procedentes de la médula ósea, que se denominan *folículos primarios*. Los *folículos secundarios* se constituyen cuando los linfocitos del folículo primario sufren una estimulación antigénica y se transforman en células blásticas; éstas tienen tendencia a disponerse en el centro del folículo formando el *centro germinal*, que queda rodeado de una corona de linfocitos pequeños denominada *manto folicular*. Dentro del centro germinal se distinguen dos zonas: una oscura, donde residen los centroblastos, y otra clara, que está constituida a la vez por una zona clara basal y una zona clara apical ocupada mayoritariamente por centrocitos. En estos folículos secundarios se encuentran, además, células dendríticas foliculares, macrófagos y algún linfocito T. Las células plasmáticas y las células plasmocitoides o linfoplasmocitos constituyen la fase final del proceso de diferenciación del blasto B del centro germinal (fig. 1.24b). Los precursores de las células plasmáticas migran del centro germinal para ubicarse en la médula ósea y experimentar en ella su transformación a célula plasmática. La célula plasmática también puede originarse en el ganglio a partir de otras células B, como el centrocito, o de las células de la zona marginal[54-56].

En algunos órganos linfoides, como el bazo, los ganglios mesentéricos y las placas de Peyer del intestino, puede existir una capa celular por fuera del manto que lo rodea, que se denomina *zona marginal*. Los folículos se hallan rodeados de linfocitos T que se disponen en forma difusa y constituyen la *zona paracortical* o *zona T*. Esta zona contiene muchas células

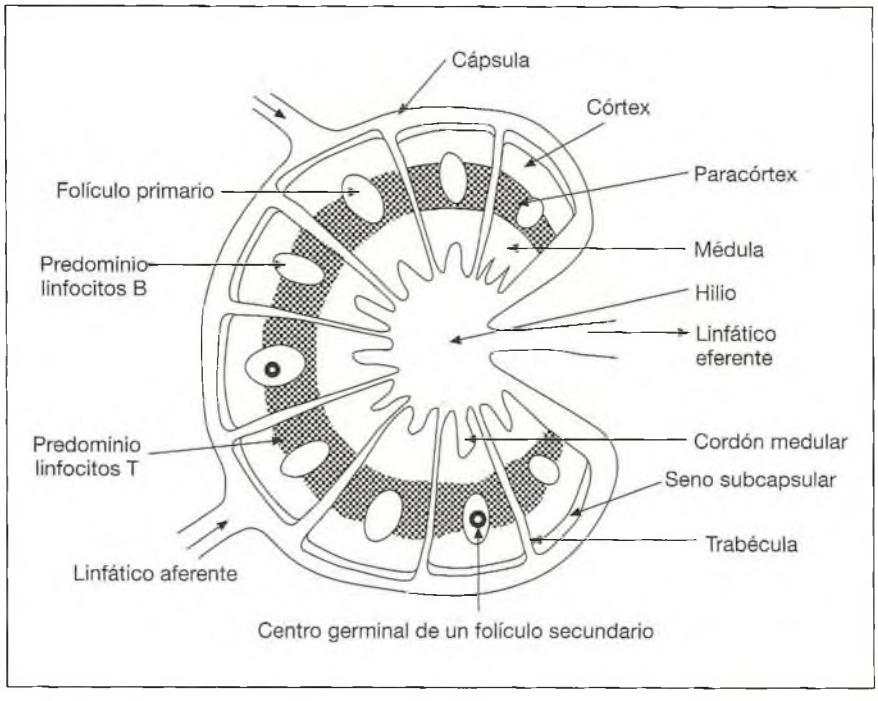


Figura 1.24a. Esquema de la estructura anatómica de un ganglio.

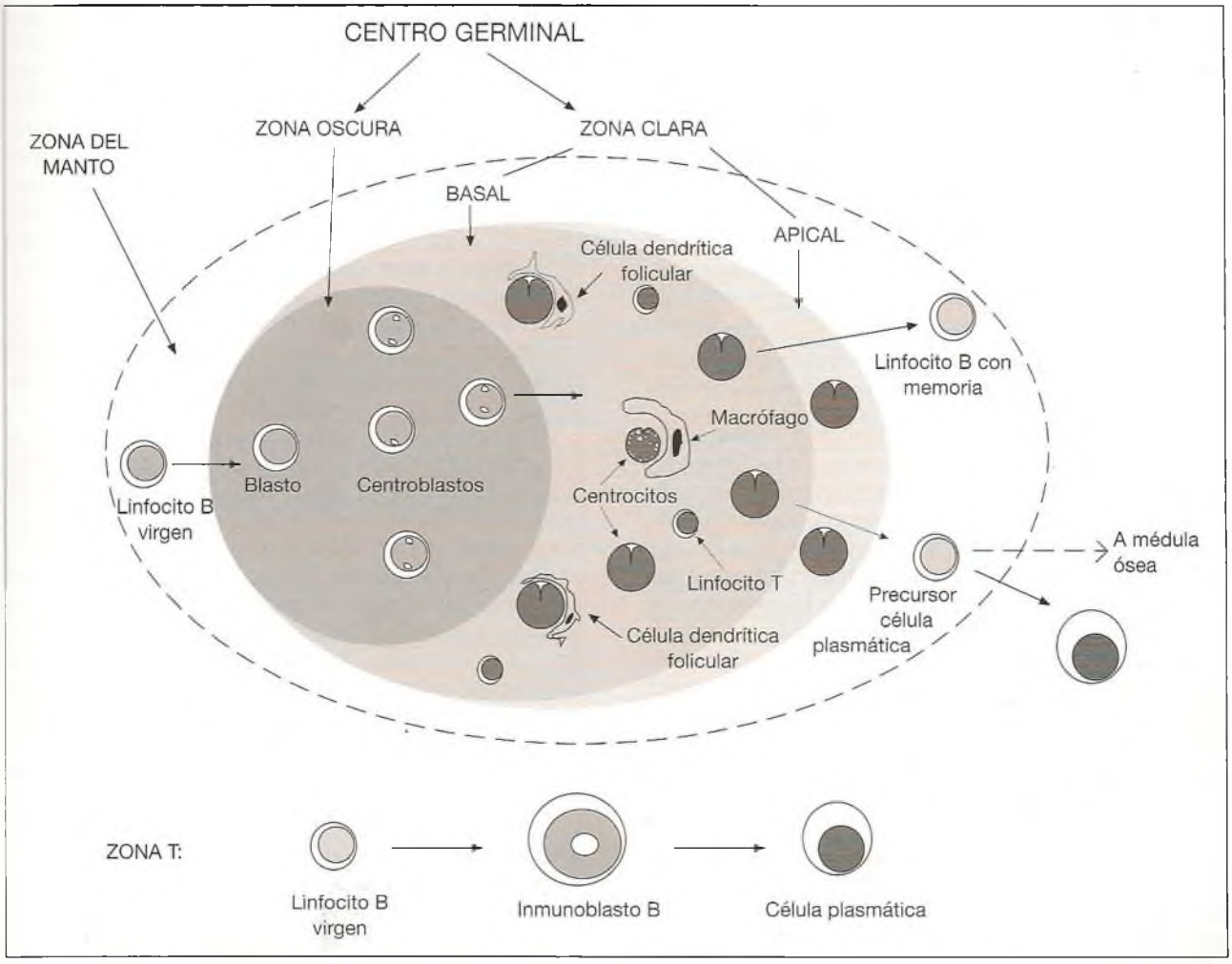


Figura 1.24b. Esquema de la transformación de los linfocitos B en el folículo linfoide secundario.

interdigitantes, que expresan valores muy elevados de antígenos de superficie del sistema de histocompatibilidad de clase II. Las células interdigitantes proceden de la piel (células de Langerhans) o de las mucosas (células dendríticas), y transportan antígenos procesados desde otras zonas del cuerpo, tanto internas como externas, hacia los nódulos linfoides. La célula interdigitante tiene un núcleo alargado que suele presentar una incisura central y un citoplasma que emite unas prolongaciones que le confieren aspecto de estrella. Expresa la proteína S100, y carece de los antígenos CD21 y CD22. La célula dendrítica folicular es difícil de identificar morfológicamente. Presenta un núcleo de cromatina laxa y, en ocasiones, dos núcleos que se disponen adosados entre sí, que le confieren el aspecto de *kissing cells;* el citoplasma emite finas y largas prolongaciones de escasa basofilia que contribuyen a mantener la estructura física del ganglio. Las células dendríticas expresan los antígenos CD20, CD21 y CD23.

La zona más interna del ganglio es la médula central, formada por cordones celulares separados por los sinusoides linfoides que drenan en el *sinus* terminal, origen del vaso linfático eferente. Los cordones medulares están constituidos por linfocitos T, linfocitos B, células plasmáticas y macrófagos.

El ganglio tiene un armazón constituido por una red de fibras reticulares que sirven de soporte para los macrófagos y para las células presentadoras de antígeno: las células interdigitantes de la zona paracortical y las células dendríticas foliculares. Estas estructuras contribuyen a la creación del microambiente necesario para la adecuada supervivencia linfocitaria.

Los linfocitos procedentes del torrente circulatorio entran en el ganglio linfático por los vasos linfáticos aferentes, que penetran a través de la cápsula y desembocan en el seno subcapsular marginal, donde tienen que atravesar el endotelio de las pequeñas vénulas poscapilares (vénulas de endotelio alto, *high endothelial venules*), por lo que la linfa circula enlentecida en esta zona, hecho que facilita la fagocitosis y los procesos relacionados con la formación de anticuerpos. El seno subcapsular y los senos medulares en disposición radial, que transcurren, por lo general, a lo largo de una trabécula, convergen en los vasos linfáticos eferentes en el hilio ganglionar. Desde aquí, los linfocitos son conducidos al conducto torácico, que termina volcándolos de nuevo a la circulación sanguínea[54-56] (figs. 1.24a, 1.24b).

Poblaciones linfocitarias y su caracterización

Actualmente, el linfocito ocupa una posición de elite dentro de la celularidad hematopoyética, tras demostrarse su tremenda plasticidad inmunogenética. En la década de 1960 se descubrieron dos tipos linfocitarios, los linfocitos T responsables de la inmunidad celular, y los linfocitos B, responsables de la

inmunidad humoral, los cuales, a su vez, constan de diversas subpoblaciones que pueden diferenciarse mediante características inmunológicas, enzimáticas, morfológicas y funcionales. Además de los linfocitos T y B, existe una tercera variedad: las *células NK* (*natural killer* o células agresoras naturales). Los rasgos diferenciales señalados en la tabla 1.6 sólo son válidos para los linfocitos humanos maduros, y únicamente se anotan aquellos atributos que, en la actualidad, gozan de una aceptación unánime. Todos los tipos linfocitarios están dotados de especialización inmunocompetente[43,55,56].

La mayoría de los linfocitos maduros tienen una vida larga, y algunos persisten, como células de memoria, durante varios años.

Ontogenia de los linfocitos T

Los linfocitos T proceden de la célula primitiva linfoide, ubicada en la médula ósea[54-56]. Los precursores de los linfocitos T medulares, cuando llegan al timo, sufren un proceso de maduración y adquieren inmunocompetencia. Posteriormente, abandonan el timo y pasan a la sangre periférica y a los órganos linfáticos secundarios, transformándose en linfocitos T funcionalmente maduros[56-58]. La madurez de los linfocitos T se alcanza con la expresión en la membrana citoplasmática de los receptores de linfocitos T, estructuras que actúan como receptores específicos para el antígeno (receptores de célula T o RCT)[54-58]. Son unos heterodímeros compuestos por dos cadenas polipeptídicas unidas por un puente disulfuro. Existen dos tipos de RCT: uno constituido por las cadenas α y β, presente en la mayoría de los linfocitos T periféricos, y otro heterodímero, formado por las cadenas γ y δ[54-57] (aproximadamente, el 90-95% de linfocitos T de la sangre son de tipo αβ, y el 5-10% restante son γδ). Ambos receptores están asociados al complejo CD3, constituido por un grupo de cinco polipéptidos, y juntos forman el complejo receptor de la célula T (RCT-CD3). La expresión del RCT en los linfocitos T no aparece hasta la fase de timocito medular, cuando ya expresan el antígeno CD3, aunque los genes ya están reordenados en fases anteriores. El proceso de reordenamiento de los genes que codifican los receptores de los linfocitos T se inicia en el timo. La mayoría de los estudios indican que, en el hombre adulto, la secuencia en que se producen los reordenamientos de los genes es la siguiente: primero se reordena el gen de la cadena delta, y le siguen los genes de las cadenas gamma y beta y, finalmente, se reordena el de la cadena alfa[57]. Estas proteínas, posteriormente, se expresan en la membrana celular. La expresión de CD3 aparece al mismo tiempo que las cadenas beta. Las proteínas que forman el complejo CD3 están involucradas en el transporte del receptor T a la superficie y en la transducción de señales al interior de la célula.

El análisis del estado del reordenamiento de los genes de las cadenas αβ y γδ del receptor de las células T se utiliza actualmente para averiguar la monoclonalidad de las células T en los síndromes linfoproliferativos.

El timo es un órgano linfoide de pequeño tamaño, que se localiza en la parte alta y anterior del mediastino. Es activo durante el período fetal y los primeros años de vida, e involuciona posteriormente en el adulto. Está organizado en lóbulos. Cada lóbulo consta de un área cortical o corteza y un área medular rica en células epiteliales, macrófagos y células interdigitantes, procedentes de la médula ósea y ricas en antígenos de histocompatibilidad de clase II (MHC II) (fig. 1.25). En el timo, los linfocitos T (timocitos), bajo la influencia del microambiente epitelial, maduran y adquieren plena competencia inmunológica. En la zona más periférica o corteza, que constituye el 80% de la glándula tímica, se localizan los timocitos más inmaduros que, tras un proceso de maduración, pasan a la zona medular, que constituye el 15% restante del timo y está formada por linfocitos T, que poseen caracteres de madurez fenotípica y funcional. La expresión del receptor RCT en la superficie celular es débil, y se inicia con mayor intensidad en la zona subcapsular y en el córtex del timo, donde existe una proliferación celular muy activa. Se desconoce la circulación intratímica de los timocitos y la exacta relación entre corteza y médula.

En el timo, la célula progenitora hematopoyética más primitiva expresa intensamente los antígenos CD34 y CD45RA y

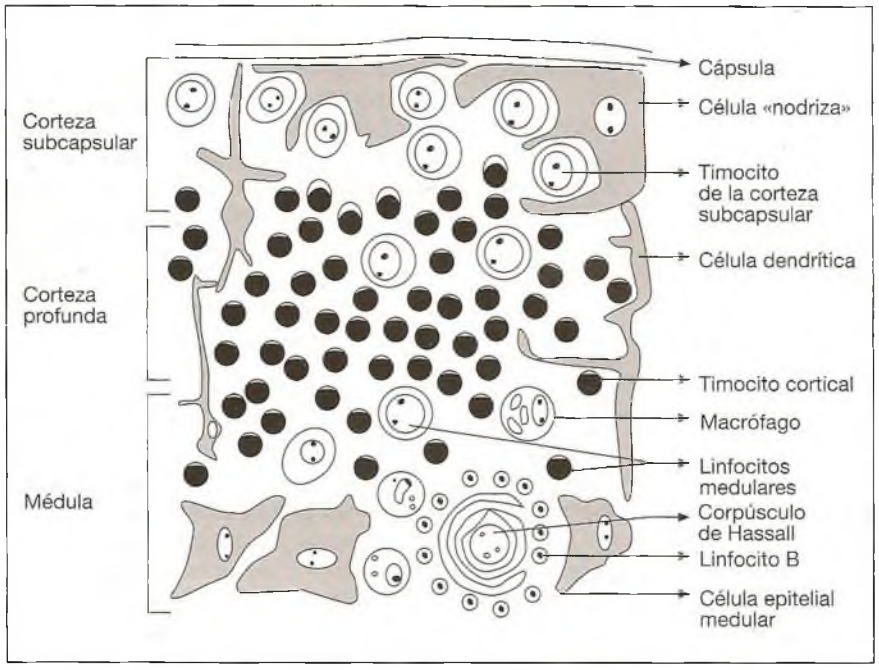


Figura 1.25. Esquema de un lobulillo tímico con su componente celular.

débilmente el CD38, y carece de CD2 y CD5. Asimismo, puede expresar los antígenos CD33 y CD13. Esta célula tiene capacidad de producir distintas líneas celulares, que incluyen linfocitos T, células dendríticas, células NK y células mieloides. En una fase más avanzada de su evolución, estos progenitores adquieren los antígenos CD2 y CD5, y forman una población tímica CD34 y CD5 positiva y CD1a negativa, que incluye unos precursores bipotentes para la línea T y células NK[48,57,58]. En una etapa posterior, adquieren el CD1, disminuyen su capacidad para producir células NK y evolucionan, pasando previamente por células pre-T, hacia células doble positivas CD4/CD8, que expresan débilmente el complejo RCT/CD3. Por último, estas células experimentan una selección positiva[48,54-58]. Durante el proceso de diferenciación a célula linfoide T madura existe una secuencia de reordenamientos de los genes que codifican los receptores T, así como unos cambios en la superficie de la membrana (tabla 1-3). Las variaciones del fenotipo se suceden, básicamente y de forma esquemática, en tres etapas:

1. En la *fase de timocito inmaduro* o *pretimocito,* expresan, además de la enzima TdT, los antígenos CD44 y CD25, y son negativos para los antígenos CD4 y CD8 (células doble negativas); en una fase más precoz de este proceso de maduración los genes que codifican para las cadenas δ y γ están reordenados y dan lugar a una pequeña subpoblación de linfocitos T CD3+, CD4–, CD8+/– con reordenamiento de RCT δγ que circulan en sangre periférica y que representan el 1-3% de los linfocitos[57]. En un período más avanzado de timocito inmaduro, se reordena la cadena β del receptor T y se expresa el CD3 en el citoplasma, pero no en la superficie. En esta fase, pueden detectarse algunos marcadores de proliferación, como el CD38 y el receptor de la transferrina. Los timocitos inmaduros se localizan en la parte subcapsular de la corteza tímica y representan el 10% de todos los timocitos. A medida que las células maduran, entran en una segunda fase de su diferenciación.
2. Se constituye el *timocito intermedio*; éste pierde la expresión de la TdT, y se caracteriza por presentar el antígeno CD1, por ser negativo para el CD44 y CD25, y por adquirir los antígenos CD4 y CD8 (célula doble positiva). Simultáneamente, se reordenan los genes que codifican la cadena α del receptor RCT, y se expresan, muy débilmente, las cadenas α y β, junto al complejo CD3 en la superficie de la célula. Estos timocitos de la parte más profunda de la corteza representan cerca del 80% de los timocitos[54-56].
3. La última fase de desarrollo del linfocito T está representada por el *timocito maduro*. En este estadio, pierde el CD1, expresa intensamente el complejo CD3 junto al receptor RCT αβ y se diferencia en dos poblaciones: una que expresa el antígeno CD4 y otra que expresa el antígeno CD8. Esta fase (selección positiva) acontece en la médula del timo. Todos los linfocitos maduros de la sangre periférica que emigran del timo expresan los siguientes antígenos: CD2, CD7, CD5 y CD45RA. El 70-75% expresa la molécula CD4 y constituye la población linfoide que, básicamente, ayuda o induce la respuesta inmune, es conocida también como linfocitos T colaboradores. Estos linfocitos presentan un receptor para el fragmento Fc de la inmunoglobulina-M, y facilitan la diferenciación de los linfocitos B. El 25-30% restante posee el antígeno CD8, y constituye la población T citotóxica (tabla 1.3)[56-58].

En la médula del timo, en especial alrededor de los cuerpos de Hassall, se sitúan *linfocitos B* que se encuentran en estado de activación con muchas mitosis. De ellos pueden arrancar linfomas no hodgkinianos. Estos linfocitos B del timo expresan el antígeno Ki67 y carecen de CD21[59]. Ante esta evidencia, ya no se puede seguir considerando al timo como un órgano T exclusivo. Los linfocitos B del timo parecen tener un papel funcional, actuando quizá como presentadores de antígenos somáticos a las células del timo.

Los linfocitos T llegan con la sangre a los órganos linfoides periféricos, asentándose en localizaciones precisas: zona cortical profunda y área interfolicular de los ganglios linfáticos, manto periarteriolar de la pulpa blanca del bazo, áreas interfoliculares de las placas de Peyer del intestino y órganos linfoides bucofaríngeos. Tras una estancia en dichos órganos, regresan a la circulación general, prolongándose este circuito durante meses o años. En el ganglio linfático, los linfocitos T vírgenes, bajo la influencia de un primer estímulo antigénico, experimentan una etapa de transformación blástica (inmunoblasto T), con producción de glucoproteínas de bajo peso molecular, denominadas linfocinas. Estos inmunoblastos T, morfológicamente indistinguibles de los inmunoblastos B, dan lugar a los linfocitos T dotados de memoria inmunológica, lo que significa que, al enfrentarse con un segundo estímulo antigénico, responden inmediatamente con la producción de linfocinas. Los inmunoblastos, a diferencia de los linfoblastos T (timocitos), son TdT y CD1 negativos, e intensamente positivos para los antígenos T, y expresan CD4 o CD8 o ninguno de ellos. A partir de estos inmunoblastos que han reaccionado con el antígeno, se forman las células T efectoras antígeno-específicas de tipo CD4 o CD8, así como la célula T con memoria[56].

Morfológicamente, los linfocitos T de sangre periférica son una población heteromorfa. Se distinguen dos tipos: uno mayoritario, formado por células de pequeño tamaño, de núcleo con contorno algo irregular, cromatina condensada, una relación núcleo-citoplasma elevada y habitualmente agranulares; y un segundo tipo que tiene una relación núcleo-citoplasma más baja, contiene varios gránulos azurófilos en su citoplasma y se le conoce como linfocito grande granular (LGG). La mayoría de los linfocitos CD4 positivos y una proporción de los linfocitos CD8 positivos son de pequeño tamaño y agranulares (fig. 1.30). El análisis ultraestructural de estos linfocitos demuestra unas estructuras citoplasmáticas, denominadas cuerpos de Gall, que son cúmulos de lisosomas, junto a una estructura lipídica, sólo reconocibles con el microscopio electrónico[43,54-56]. La población de LGG constituye el 10-15% de las células mononucleadas de sangre periférica y consta, a su vez, de dos poblaciones celulares fenotípicamente distintas: una CD3 positiva y otra CD3 negativa. Los LGG CD3 negativos son las auténticas células NK; no expresan receptor de célula T ni reordenamiento de los receptores T, pero sí los antígenos CD16 y CD56. Los LGG CD3 positivos expresan, además del antígeno CD3, el receptor de linfocito T y reordenamiento de los genes de los receptores T[54,60].

Los LGG son ricos en fosfatasa ácida y otras hidrolasas ácidas, con positividad multifocal. Ultraestructuralmente, se caracterizan por presentar riqueza de organelas: gránulos electrondensos, cuerpos multivesiculares, cuerpos de Gall y abundantes estructuras tubulares paralelas en el 10-15% de ellos. El 50% de linfocitos CD8 positivos y una minoría de CD4 positivos presentan morfología de LGG (tabla 1.3) (fig. 1.26).

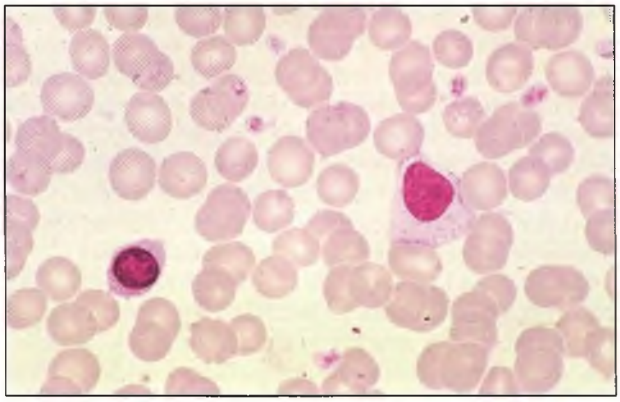


Figura 1.26. Varios linfocitos maduros en sangre periférica, uno de ellos con características de linfocito grande granular (May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

Existe un subtipo de linfocitos T supresores citotóxicos que contienen en su citoplasma proteína S-100 y representan el 2-10% de las células mononucleadas de sangre periférica[61].

Ontogenia de los linfocitos B

Los *linfocitos B* derivan también de una célula germinal linfoide pluripotente, y en el hombre adquieren su competencia inmunológica en la médula ósea y otros equivalentes de la bolsa de Fabricio de las aves, como el hígado fetal y, posiblemente, la placenta[54-56]. A semejanza del linfocito T, los linfocitos B alcanzan su madurez funcional con la expresión en la membrana de los receptores de reconocimento antigénico. En las células B estos receptores son las inmunoglobulinas de superficie. Durante la maduración del linfocito B tiene lugar una secuencia de reordenamientos de los genes de las inmunoglobulinas y cambios del fenotipo[54-56]. Las inmunoglobulinas (Ig) tienen una unidad básica constituida por dos cadenas ligeras (kappa y lambda) y dos cadenas pesadas unidas por puentes de disulfuro. Las cadenas pesadas difieren según el tipo de Ig (G, M, A, D y E)[54].

Antes de llegar al estadio de células pre-B, los precursores más inmaduros de células B, denominados por algunos autores *células pre-pre-B* o también *pro-B,* ya pueden ser identificados fenotípicamente mediante anticuerpos monoclonales. Estas células expresan la molécula CD34, los antígenos HLA-DR, CD10 (CALLA), CD19, CD24 y la enzima TdT. No poseen inmunoglobulinas de superficie, pero sí reordenamiento del gen de la cadena pesada μ, que representa la primera indicación de compromiso con la línea B. En el estadio del *linfocito pre-B* existe todavía TdT y los antígenos CD10 y CD34. Además, expresan los antígenos HLA-DR, CD19, CD24 y aparece el CD20 y la molécula específica de linaje: el CD22. En esta fase, se expresa el antígeno leucocitario común (CD45). La célula precursora B también expresa CD79a, molécula que se asocia con las Ig de superficie (Ig_S) y está implicada en la transducción de señales tras la unión de las Ig_S con el antígeno, a semejanza de lo que sucede con el CD3 y la molécula del receptor T en la célula T. En cuanto a la expresión de las inmunoglobulinas, este estadio es el primero en el que pueden identificarse cadenas pesadas μ en el interior del citoplasma, en ausencia de cadenas ligeras y de inmunoglobulinas de membrana. A medida que progresa la maduración, se pierde el CD10 (que vuelve a expresarse cuando el linfocito es estimulado por un antígeno), se reordenan los genes de las cadenas ligeras que se transcriben y se sintetizan y ensamblan con las cadenas μ. La célula pasa a expresar IgM de superficie, denominándose *linfocito B inmaduro.* Poco después pasa a *linfocito B maduro,* que sintetiza además IgD y sigue expresando los antígenos de membrana CD19 y CD24. También es positivo para los antígenos CD20, CD22 y CD21. El CD21 reconoce un epítopo del receptor del complemento CR2 que, a su vez, constituye el receptor para el virus de Epstein-Barr. En la tabla 1.4 se representan los diferentes estadios evolutivos del linfocito B con sus antígenos de diferenciación[54-56].

Los linfocitos B maduros pasan de la médula ósea a la sangre periférica, donde constituyen la minoría de la población linfocitaria circulante (entre el 5 y el 15%). En sangre periférica existe una subpoblación de linfocitos B que se caracteriza por expresar la molécula CD5, que es atributo normal de los linfocitos T maduros, y constituyen el 10-30% de los linfocitos B de sangre periférica. Con la edad, esta población disminuye[54-56]. Los linfocitos B se dirigen desde la sangre periférica hasta los órganos linfáticos periféricos, afincándose en las zonas inmunológicamente dependientes de B. En el ganglio, cuando los linfocitos B son activados por antígenos, maduran a células formadoras de anticuerpos y a estadios maduros de célula plasmática, o evolucionan a células de memoria. Las células B maduras que no han recibido el estímulo antigénico, o células vírgenes, pasan a formar parte de una pequeña fracción de células B de los folículos linfoides primarios y de la zona del manto. Son células que tienen reordenados pero no mutados los genes de las inmunoglobulinas, y que están en reposo hasta que se encuentran con el antígeno. Cada célula B está comprometida a una cadena ligera, kappa o lambda, y toda su progenie expresará la misma cadena. Las células B vírgenes específicas de antígeno colonizan el folículo linfoide y son estimuladas por el antígeno, dando lugar a *células blásticas,* y constituyen el centro germinal. Los *blastos* del centro germinal proliferan y se transforman en *centroblastos,* que no expresan inmunoglobulinas; éstos dan lugar a los *centrocitos,* que vuelven a expresar inmunoglobulinas de superficie. Después de ser estimulados por antígenos, presentados por las células dendríticas foliculares, se activan y abandonan los folículos secundarios como *células de memoria* o como *precursores de células plasmáticas*[54-56]. La mayoría de estos precursores de la célula plasmática, al abandonar el centro germinal, migran a la médula ósea para diferenciarse en células plasmáticas maduras, y una minoría experimenta la transformación a célula plasmática de alta afinidad para el antígeno en el mismo folículo. Las células plasmáticas secretoras de inmunoglobulinas representan el estadio final de la transformación antigénica del pequeño linfocito B (fig. 1.24b). El linfocito B en el centro germinal reconoce al antígeno a través del anticuerpo ligado a la membrana celular. Durante este proceso, su DNA genómico experimenta hipermutaciones somáticas. Éstas consisten en cambios de nucleótidos que implican cambios de aminoácidos y que determinan cambios en la afinidad y especificidad del anticuerpo para el antígeno, y pueden aumentarla, disminuirla o abolirla. Los linfocitos cuyas hipermutaciones somáticas producen un aumento de la afinidad para el antígeno son seleccionados y sobreviven, mientras que los linfocitos que con las hipermutaciones somáticas disminuyen o pierden afinidad para el antígeno sufren apoptosis y mueren[62]. Por otra parte, en el centro germinal algunos linfocitos B experimentan

TABLA 1.4

Esquema de diferenciación de los linfocitos B definidos por la expresión de marcadores B

Etapas	**Independientes de antígeno**						**Dependientes de antígeno**	
Célula germinal	**Precursores pre-B**		**Pre-B**	**Linfocito B inmaduro**	**Linfocito B maduro**	**Linfocito B activado**	**Linfocito B con memoria**	
Móleculas			μ^+ citoplasmático	IgM superficie	IgM, IgD superficie	IgM, IgD superficie	Linfocitos B recirculantes del manto o corona IgG o IgM IgG o IgA	
							HLA-DR CD19 CD20 CD22	
Reordenamiento genes			μ	k/λ				
Expresión moléculas	TdT HLA-DR CD19 CD38	TdT HLA-DR CD19 CD24 CD38	TdT HLA-DR CD19 CD24 CD10 CD20 CD22ci CD22	TdT HLA-DR CD19 CD24 CD10 CD20 CD21 CD22	TdT HLA-DR CD19 CD24 CD20 CD21 CD22	HLA-DR CD19 CD24 CD20 CD21 CD22 *CD5	HLA-DR↑ CD19↑ CD10+/– CD20↑ CD21 CD22 CD23 CD38+/– CD71 CD25	Linfocito B plasmocitoide HLA-DR CD19 CD20 CD38	Célula plasmática CD19 CD38 PCA-1 CD138

*Presentes en una subpoblación de linfocitos B circulantes.

«cambios del tipo de inmunoglobulina» (*class switching*) que consisten en sustituir la IgM o la IgD por otras inmunoglobulinas, como la IgG, la IgA o la IgE[62].

Los linfocitos B que abandonan el folículo y regresan al estado quiescente del pequeño linfocito B con memoria inmunológica presentan características morfológicas indistinguibles del linfocito B maduro virgen. A diferencia de éste, el linfocito B con memoria es CD25+ y en su membrana ya no expresa IgD sino IgG, o IgM e IgG, o IgA, y poseen actividad de ATPasa y de 5'-nucleotidasa. Estos linfocitos pasan a integrarse en el reservorio de *linfocitos B recirculantes del manto* o *corona*.

Algunos de los linfocitos B pequeños vírgenes, se sitúan en las zonas T del ganglio, donde pueden ser estimulados por antígenos y transformarse en *inmunoblastos*, también denominados grandes células pironinófilas. Estos inmunoblastos pueden seguir el proceso de estimulación hasta células plasmáticas secretoras de anticuerpos de baja afinidad (fig. 1.24b).

El prolinfocito representa un estadio madurativo más avanzado que el linfocito B, aunque el término de prolinfocito hiciera pensar que se trata de una célula precursora. Con todo, la mayoría de autores lo ubican fuera del folículo linfoide.

El *linfocito pequeño B* es de talla pequeña, con un núcleo redondo con cromatina condensada, sin nucléolo aparente y citoplasma escaso. Constituye la población predominante de los folículos primarios y de la zona del manto de los folículos secundarios. Expresa los antígenos CD19, CD20, CD79a y la IgD de superficie. En el adulto, una pequeña proporción de los linfocitos pequeños B localizados en el manto folicular pueden expresar también CD5. De estos linfocitos CD5 positivos parecen existir dos poblaciones, una CD23+ y otra CD23–. Los linfocitos B del manto expresan proteína bcl-2. Los linfocitos pequeños B, tanto el virgen como el que tiene memoria antigénica, son morfológicamente indistinguibles. Para algunos autores, la positividad para el antígeno CD27 permite diferenciar el linfocito B pequeño con memoria (CD27+) del linfocito B virgen (CD27–)[63]. Los *centroblastos*[54,56,64-66] son de gran tamaño, con un núcleo redondeado, de cromatina laxa y nucleolada. El citoplasma, moderadamente amplio, destaca por cierto grado de pironinofilia. A medida que progresa en su estimulación, aumenta de tamaño hasta llegar a ser, en ocasiones, cuatro veces mayor que el linfocito normal en estado quiescente. Paralelamente al crecimiento, aumenta el grado de basofilia citoplásmica, así como el grado de inmadurez nuclear, con presencia de múltiples nucléolos, adosados con frecuencia a la membrana nuclear (fig. 1.27). Es destacable su gran actividad mitótica. Citoquímicamente, están dotados de escasa actividad de hidrolasa ácida, y expresan en su superficie los antígenos CD20, CD79a y CD10. No expresan antígenos de superficie CD5, CD21, CD23, y en su citoplasma no se detecta expresión de cadenas ligeras ni de proteína bcl-2. Los

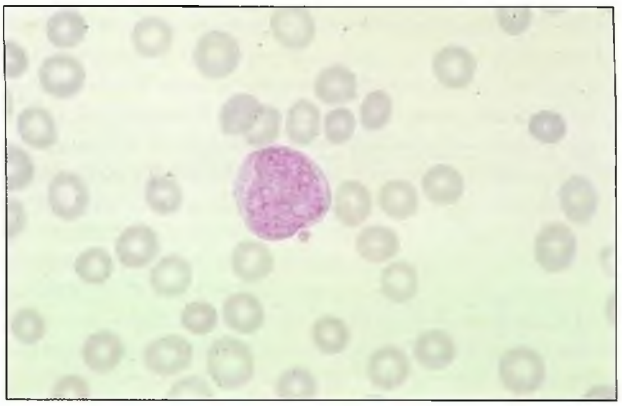


Figura 1.27. Centroblasto (May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

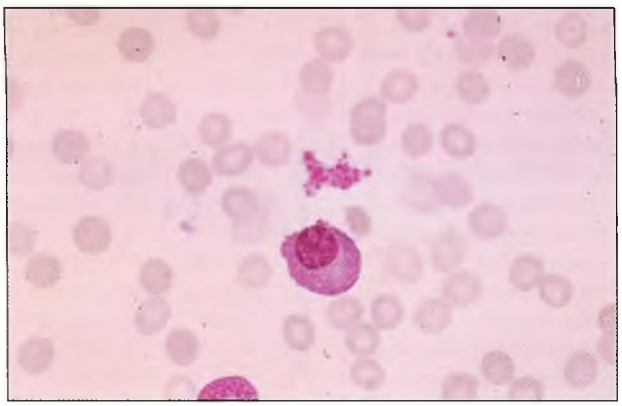


Figura 1.29. Célula plasmática (May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

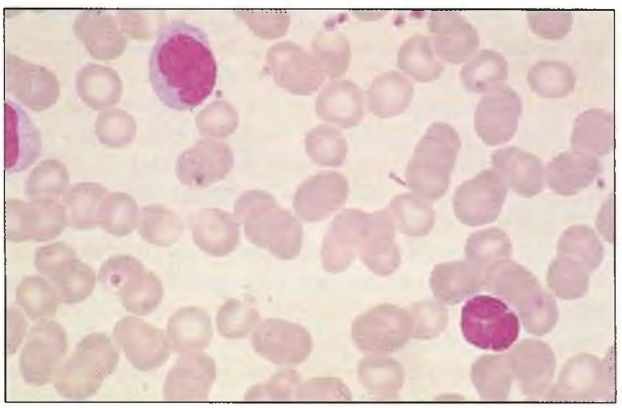


Figura 1.28. Centrocito (May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

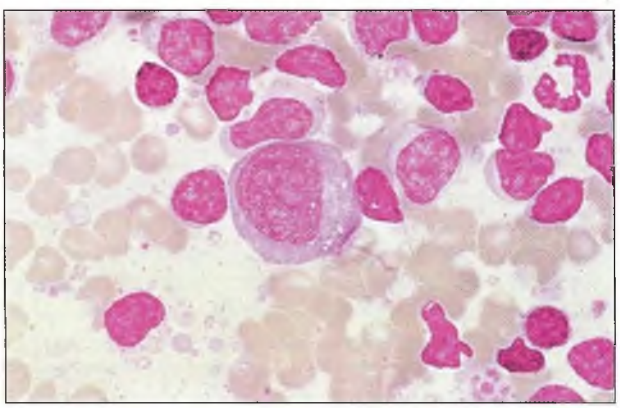


Figura 1.30. Inmunoblasto entre otros elementos linfoides (May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

centrocitos[54,56,64-66] se caracterizan por poseer un citoplasma muy escaso e hialino en la variedad pequeña, y algo más extenso, con discreta insinuación de su basofilia, en la variedad grande. El núcleo tiene una cromatina condensada, sin nucléolos visibles ópticamente en la variedad pequeña y con nucléolos visibles en la forma grande, semejando una célula blástica. Ambas subvariedades ofrecen como rasgo característico una hendidura, única o múltipe, que puede solamente insinuarse o bien llegar a ser tan profunda que segmente el núcleo (fig. 1.28). A veces, la incisuración es doble y simétrica, hecho que proporciona al núcleo un aspecto «riederiforme». Citoquímicamente, las células hendidas se caracterizan por ser negativas o sólo débilmente positivas a la fosfatasa ácida y a la betaglucuronidasa. En su superficie expresan los antígenos

TABLA 1.5

Principales características de los linfocitos T y B maduros humanos

Características	Linfocitos T	Linfocitos B
Origen	Célula germinal hematopoyética linfoide	Célula germinal hematopoyética linfoide
Adquisición competencia inmunológica	Timo	Médula ósea
Longevidad	Larga (habitualmente)	Corta (habitualmente)
Recirculación	Importante	Menos importante
Ubicación órganos linfoides periféricos		
Ganglios	Zona subcapsular profunda región interfolicular	Folículos linfáticos primarios y secundarios
Bazo	Zona periarteriolar de la pulpa blanca	Folículos de la pulpa blanca y dispersos en la pulpa roja
Tejido linfático bucofaríngeo e intestinal	Zona perifolicular	Folículos linfáticos
Porcentaje en sangre periférica	65-75%	10-20%
Antígenos de células T	+	–
HLA-DR antígenos	–	+
Inmunoglobulinas de superficie	–	+ cadena J
Receptores para:		
Fragmento Fc de la IgM	+ (T colaboradores) – (T supresores)	–
Fragmento Fc de la IgG	+ (T supresores) – (T colaboradores)	–
Función primordial	Inmunidad celular Función colaboradora (CD4) Función supresora (CD8)	Síntesis de anticuerpos (inmunidad humoral)
Memoria inmunológica	Sí	Sí
Actividad citotóxica	Sí	No
Cultivo linfocitario mixto	+	–
Características morfológicas		
Ópticas		
Tamaño	Pequeño o mediano	Mediano o grande
Gránulos citoplasmáticos	Ocasionales o ausentes	Ocasionales
Cromatina nuclear	Densa	Menos densa
Basofilia citoplásmica	Relativamente acentuada	Menor
Ultraestructurales		
Estructuras tubulares paralelas	Ocasionales	Ausentes
Urópodo celular	Presente	Ausente
Dotación enzimática		
Deoxinucleotidiltransferasa terminal (TdT)	Ausente (presente en el timocito)	Ausente (presente en algunas células pre-B)
DAP IV	Subpoblación CD4	Negativa
α-naftilacetatoesterasa ácida	Positiva focal predominante en subpoblación CD4	Negativa
Fosfatasa ácida	Positiva, centrosómica	Negativa o débilmente positiva no centrosómica

CD20, CD79a y, al igual que los centroblastos, no expresan CD5, CD21, CD23, o cadenas ligeras de inmunoglobulina en su citoplasma o la proteína bcl-2.

Las *células plasmáticas* secretoras de inmunoglobulinas representan el estadio final de la transformación antigénica del pequeño linfocito B (fig. 1.29). En este estadio, las inmunoglobulinas, en lugar de expresarse en la membrana, son detectadas en su citoplasma. La mayoría de precursores de la célula plasmática, al abandonar el centro germinal, migran a la médula ósea para diferenciarse en células plasmáticas, y una proporción muy escasa permanece en el folículo linfoide. La célula plasmática tiene un tamaño de 12 a 15 µm y forma ovalada. El núcleo, casi siempre excéntrico, posee una cromatina condensada en fuertes cúmulos, cuya disposición radial adopta el aspecto «en rueda de carro»; el eje mayor del núcleo forma un ángulo recto con el eje mayor de la célula, dato muy característico de este elemento. El citoplasma es abundante e intensamente basófilo en toda su extensión, excepto en la zona centrosómica de la célula, que tiene una tonalidad blanquecina (es el denominado arcoplasma, de configuración semilunar y situación paranuclear). Está desprovisto de granulación y puede contener algunas vacuolas y/o cuerpos de Russell; éstos son inclusiones de 2 o 3 µm, de color rosa grisáceo o incoloros, de naturaleza inmunoglobulínica. La célula de Mott corresponde a una célula plasmática con gran cantidad de estas inclusiones, que le confieren el aspecto de una mórula. En ocasiones, las inclusiones inmunoglobulínicas adoptan una estructura cristalina. El citoplasma de la célula plasmática puede tener una coloración rojo violácea, aspecto denominado «flameado», que es debido a la presencia de gran cantidad de glucoproteínas acumuladas en los sacos ergastoplasmáticos. La excentricidad del núcleo y la intensa basofilia citoplasmática permiten la fácil identificación de este tipo celular. En el ganglio son CD19 y CD38 positivas, pero cuando se ubican en la médula ósea expresan el antígeno CD38 con mayor intensidad. Un buen marcador de célula plasmática es el CD138 o Syndecan 1.

El *inmunoblasto* es una célula de gran tamaño (20-30 µm), con un amplio núcleo central (fig. 1.30). En ocasiones, el núcleo adopta una posición algo excéntrica, hecho que indica cierta diferenciación plasmocitoide. La cromatina nuclear es extremadamente laxa, con numerosos nucléolos que no suelen estar en contacto con la membrana nuclear. El citoplasma, moderadamente extenso, se caracteriza por su intensa basofilia y pironinofilia (gran célula pironinófila)[54,55,64-66]. Citoquímicamente, los inmunoblastos denotan escasa actividad de hidrolasas ácidas.

Las *células B monocitoides* son de tamaño algo superior al de un linfocito en reposo, con núcleo de contorno irregular semejante al del monocito y de cromatina poco condensada. El citoplasma es relativamente abundante y moderadamente basófilo. En la tabla 1.5 se describen las características de los linfocitos T y B maduros.

Células NK

En sangre periférica existe una pequeña población de células mononucleadas que tienen la capacidad biológica de destruir células diana, por lo que se las denomina células agresoras naturales (*natural killer*) o NK, y presentan una morfología de linfocito grande granular. La actividad agresora de estas células va dirigida, sobre todo, a las células infectadas por virus y a las células neoplásicas[54,60]. Por otra parte, existe una población celular denominada células LAK (del inglés *lymphokine-activated killer*) que tienen capacidad de actuar directamente sobre células tumorales y son producto de la estimulación con interleucina 2 (Il-2) de células NK o de algunos linfocitos T[54].

En el timo existe un progenitor hematopoyético multipotente distinto al de la médula ósea, con capacidad para producir linfocitos T, células NK, células dendríticas y, probablemente, células mieloides. Sin embargo, el órgano de elección para el desarrollo de las células NK parece ser la médula ósea[57-58]. Las células NK más inmaduras no tienen reordenados los genes que codifican los receptores de las células T; tampoco estos receptores expresan el antígeno CD3 en la superficie celular. Estos precursores más inmaduros expresan el antígeno CD161, posteriormente, adquieren de forma secuencial CD56, receptores para el receptor Fc de la

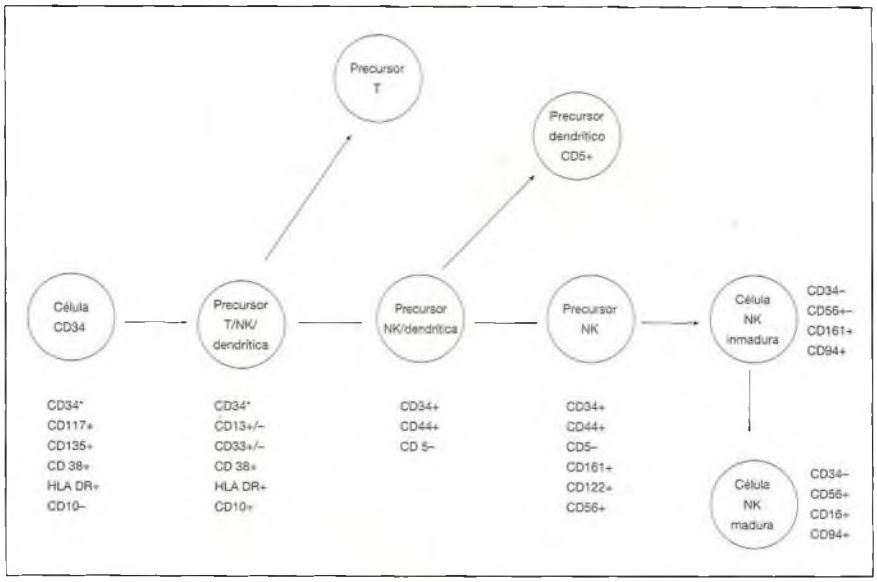


Figura 1.31. Esquema de diferenciación de la célula NK.

IgG (que se identifica con el anticuerpo monoclonal CD16), CD57 y CD94. Son positivas para el CD11, y también expresan los antígenos asociados a linfocitos T, CD2 y CD7. Las células NK sufren cambios durante los procesos de activación aguda (aumento de la expresión de HLA-DR, CD38, CD11a y CD45RO) y crónica (aumento de la expresión de CD57 y CD2, junto con disminución de la expresión de CD7, CD11b, CD11c, CD38, CD45RO y HLA-DR). La ausencia de CD3 y la presencia de CD56 y CD16, o ambos, son los marcadores más característicos de las células NK[67,68] (fig. 1.31).

Algunos autores sugieren que la demostración de clonalidad en la célula NK podría estudiarse mediante el análisis de patrones de expresión de receptores asociados a subpoblaciones NK. En la formación de conjugados entre las células NK y las células diana intervienen, para su función citolítica, señales mediadas por receptores de muerte celular de la familia de las inmunoglobulinas (KIR), como el CD158, NKB1, NKp30, NKp44 o NKp46 o tipo lectina (KLR), como el CD94 y el CD61. Estos receptores inhiben o activan células NK. Las células NK clonales parece ser que podrían expresar un patrón de expresión distinto al de las reactivas[67,68].

En la tabla 1.6 se resumen los atributos más representativos de los distintos tipos linfocitarios de la sangre periférica.

TABLA 1.6

Subtipos linfocitarios de la sangre periférica

Características	Linfocito B	Linfocito T colaborador	Linfocito T supresor	LGG	
Fenotipo de membrana	CD3– CD19+ CD22+ IgS^-	CD3+ CD4+	CD3+ CD8+	Fenotipo T CD3+ CD11b+ CD16+ CD57+ CD56+	Fenotipo NK CD3– CD11b+ CD16+ CD57+ CD56+
Ultraestructura					
Relación n/c	+	+/–	+++	+++	
Contorno nuclear irregular	–	++	+	–	
Condensación cromatínica	++	+++	++	++	
Gránulos	+	+	+++	+++	
Golgi	+	+/–	++	++	
PTA	–	–	+	+	
Retículo endoplásmico	++	+	+	+	
Configuración especial posible en una minoría de células	Linfoplasmocítica	Cerebriforme/ multilobulada	Espejo de mango	Espejo de mango	

LGG: linfocito grande granular; PTA: estructuras tubulares paralelas.
Los signos de – a +++ indican intensidad de expresión de una determinada característica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Tavian M, Cortés F, Charbord P, Labastie C, Péault B. Emergence of the haematopoietic system in the human embryo and foetus. Haematologica 1999; 84:1-3.
2. Tavassoli M, Mendel Yoffey J. Bone marrow: structure and function. Nueva York: Alan R Liss Inc., 1983.
3. Mayani N, Guilbert LJ, Janowska-Wieczorck A. Biology of the hemopoietic microenvironment. Eur J Haematol 1992; 49:225-233.
4. Testa N, Dexter M. The regulation of haemopoietic cell production. En: Hoffbrand AV, Lewis SM, Tuddenham EGD (eds.). Postgraduate haematology. Oxford 1999; 1-12.
5. Ogawa M. Differentiation and proliferation of hematopoietic stem cells. Blood 1993; 81:2844-2853.
6. Ploemacher R. Characterisation and biology of normal human haematopoietic stem cells. Haematologica 1999; 84:4-7.
7. Liu H, Verfaille CM. Myeloid-lymphoid initiating cells (ML-IC) are highly enriched in de rhodamine-c-kit(+)CD33(–)CD38(–)fraction of umbilical cord CD34(+) cells. Exp Hematol 2002; 30:582-579.
8. Leung AY, Verfaille CM. Stem cell model of hematopoiesis. En: Hoffman R (ed.). Hematology. Basic principles and practice. Elsevier 2005; 200-214.
9. Fauser AA, Messner HA. Identification of megakaryocytes, macrophages and eosinophils in colonies of human bone marrow containing granulocytes and erythroblasts. Blood 1979; 53:1023-1029.
10. Ash RC, Detrick RA, Zanjani ED. Studies of human pluripotential hemopoietic stem cells (CFU-GEMM) *in vitro*. Blood 1981; 58:309-316.
11. Debili N, Coulombel L, Croisille L, Katz A, Guichard J, Breton-Gorius J. Characterization of a bipotent erythro-megakaryocytic progenitor in human bone marow. Blood 1996; 88:1284-96.
12. Papayannopoulou T, D'Andrea AL, Abkowitz JL, Migliaccio AR. Biology of erythropoiesis, erythroid differentiation, and maturation. En: Hoffman R (ed.). Hematology. Basic principles and Practice. Elsevier 2005; 267-288.
13. Khanna-Gupta A, Berliner N. Granulocytopoiesis and monocytopoiesis. En: Hoffman R (ed.). Hematology. Basic principles and Practice. Elsevier 2005; 289-301.

CAPÍTULO 2

Diagnóstico biológico de las hemopatías: citoquímica, inmunofenotipo, cultivos celulares *in vitro*, ultraestructura y biopsia medular

S. Woessner, L. Florensa y E. Pérez Vila

ÍNDICE

Introducción
Métodos citoquímicos
Inmunocitología
Anticuerpos monoclonales de uso más frecuente en hematología. Sistema CD (*Cluster Designation*) de nomenclatura
Aplicaciones de la citometría de flujo en el diagnóstico hematológico
Inmunofenotipo de las leucemias agudas
Inmunofenotipo de los síndromes linfoproliferativos crónicos
Otras aplicaciones de la citometría en hematología
Aplicación de la inmunocitoquímica en el diagnóstico hematológico
Cultivos celulares *in vitro*
Cultivos *in vitro* en las leucemias agudas
Cultivos *in vitro* en los síndromes mielodisplásicos
Cultivos *in vitro* en los síndromes mieloproliferativos crónicos
Cultivos *in vitro* en la aplasia medular y otras citopenias
Trasplante de médula ósea y de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica y cordón umbilical
Ultraestructura
Biopsia de médula ósea
Bibliografía

INTRODUCCIÓN

La hematología es una especialidad médica que tiene una gran dependencia de los métodos de laboratorio, en general, y de las técnicas citológicas, en particular.

No hace demasiados años, el citólogo, con un modesto microscopio de luz y una simple extensión de sangre o de órgano hematopoyético teñida con una coloración panóptica, tenía que afrontar el reto diagnóstico. Afortunadamente, durante las últimas décadas, el estudio morfológico de las células hematopoyéticas mediante las tinciones clásicas ha sido ampliamente complementado con distintas metodologías. Este capítulo se referirá a la utilidad práctica de las diversas técnicas más útiles en el diagnóstico hematológico.

MÉTODOS CITOQUÍMICOS

La citoquímica –el complemento más antiguo de la citología convencional– estudia la composición química de la célula y permite precisar la localización topográfica de diversas sustancias, considerándose como un nexo de unión entre la morfología y la bioquímica al conjugar forma y función. Mediante técnicas citoquímicas pueden ponerse de manifiesto diversos principios inmediatos, como enzimas oxidantes o hidrolíticas y compuestos inorgánicos, entre otros[1].

Unas reacciones citoquímicas han resistido mejor que otras el paso del tiempo. Así, la reacción enzimática de las oxidasas y peroxidasas, la primera aplicada a la hematología, continúa con la misma vigencia al ser insustituible en la diferenciación entre células mieloides y linfoides. La positividad de la mieloperoxidasa a nivel óptico en la granulación primaria o a nivel electrónico, en su ubicación en la cisterna perinuclear y el reticuloendoplasmático rugoso, antes de aparecer en la granulación primaria, sigue siendo en la actualidad el mejor marcador mieloide, y así ha sido reconocido al incluirlo entre los criterios mieloides mayores establecidos por Gale y Ben Bassat[2] en la catalogación de las leucemias agudas híbridas o bifenotípicas. El interés en su estudio no se limita sólo a la filiación blástica sino que la constatación de un déficit total o

parcial de mieloperoxidasa en una célula granulopoyética semimadura o madura apunta a su pertenencia a una clona mieloide patológica, lo cual permite diferenciar hemopatías primarias de reacciones neutrofílicas secundarias. La presencia de más del 3% de blastos positivos a la mieloperoxidasa permite la filiación mieloide de una blastosis[3].

El estudio de ciertas hidrolasas alcalinas y ácidas en los síndromes mieloproliferativos y linfoproliferativos crónicos sigue siendo útil. Conviene recordar el valor diagnóstico confirmativo del descenso de la fosfatasa alcalina granulocítica en la leucemia mieloide crónica cromosoma Philadelphia positiva, que contrasta con la franca elevación que se produce en otros síndromes mieloproliferativos, especialmente la policitemia *rubra vera*. El constante descenso de la fosfatasa alcalina granulocítica, junto al de otras glucoproteínas dependientes de glucosilfosfatidilinositol, perfila el fenotipo de la hemoglobinuria paroxística nocturna; ascensos importantes de dicha actividad enzimática suelen acompañar a situaciones de hipoplasia, ya sea idiopática, medicamentosa o toxicolaboral (benzolismo); en este último caso, el aumento puede preceder en varios meses a la instauración de las citopenias (fig. 2.1 y tabla 2.1).

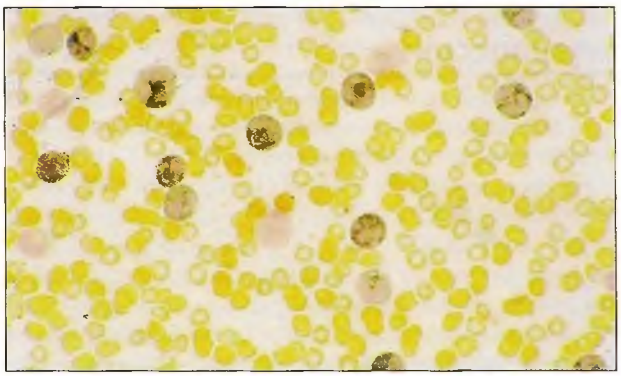


Figura 2.1. Diversos granulocitos con expresión de fosfatasa alcalina (técnica de Kaplow, ×1.000).

TABLA 2.1

Índice de fosfatasa alcalina granulocítica

Aumento	Disminuido
Aplasia medular	Leucemia mieloide crónica típica
Policitemia *rubra vera*	Hemoglobinuria paroxística nocturna
Metaplasia mieloide agnogénica (75%)	Leucemia aguda mieloblástica
Leucemia linfoblástica aguda	Síndromes mielodisplásicos
Reacciones leucemoides neutrofílicas	Metaplasia mieloide agnogénica (25%)
Enfermedad de Hodgkin (fase activa)	Púrpura trombocitopénica idiopática
Leucemia mieloide crónica (agudización)	Sarcoidosis
Benzolismo subclínico	
Tricoleucemia	
Embarazo	
Anticonceptivos orales	
Corticoides	
Factores de crecimiento GM-CSF, G-CSF	

Del estudio citoquímico de diversas hidrolasas ácidas (fosfatasa ácida, betaglucuronidasa, N-acetil-beta-D-glucosaminidasa, esterasa ácida, etc.) puede inferirse, en ocasiones, el carácter reactivo o proliferativo de una linfocitosis y permite incluso anticipar su catalogación inmunológica según sea el patrón de positividad. Las esterasas inespecíficas (naftol-AS-D-acetato, naftolacetato, naftilbutirato) también son clásicas en la identificación celular. Su positividad y fluorurosensibilidad se constata en las leucemias monocíticas tanto agudas como crónicas, y dicha técnica debe aplicarse siempre que interese resaltar y cuantificar el componente monocítico de una población celular. Al igual que para otras enzimas, se han descrito comportamientos esterásicos anómalos en algunos síndromes mielodisplásicos y leucemias agudas («infidelidad» citoquímica). Las citadas esterasas inespecíficas ofrecen un comportamiento paralelo, excepto en las células blásticas de estirpe megacariocítica, en las que la positividad de la alfanaftilacetatoesterasa suele ir compañada de negatividad de la alfanaftilbutiratoesterasa.

Determinadas estructuras específicas permiten ser detectadas mediante reacciones citoquímicas, como es el caso de la granulación primaria marcada por la mieloperoxida, y la secundaria por la lactoferrina. Algunas enzimas detectables citoquímicamente son marcadores de determinadas líneas celulares, como la cloroacetatoesterasa, esterasa específica de la granulopoyesis neutrofílica, o el de la triptasa para la celularidad basófila y mastocítica.

Se dispone de reacciones enzimáticas que guardan una estrecha relación con determinados marcadores inmunológicos. La dipeptidilaminopeptidasa IV (DAP-IV) es paralela a la expresividad del antígeno CD4 de la población T, y la positividad de la 5'-nucleotidasa se corresponde con la del antígeno de la leucemia linfoblástica común (CD10); con todo, estas dos últimas reacciones citoquímicas se han visto relegadas a segundo término, dada la fácil disponibilidad actual de anticuerpos monoclonales.

La reacción citoquímica de Perls para la detección de la hemosiderina, no por simple debe dejar de considerarse, pues es insustituible en la evaluación de todo síndrome anémico (figura 2.2). El número de sideroblastos, su posible aspecto patológico (formas anilladas) y la presencia o ausencia de hemosiderina en las células macrofágicas de la médula ósea, en muchas ocasiones, son diagnósticos. Así, por ejemplo, una gran disminución o ausencia de sideroblastos y de hierro de depósito indican

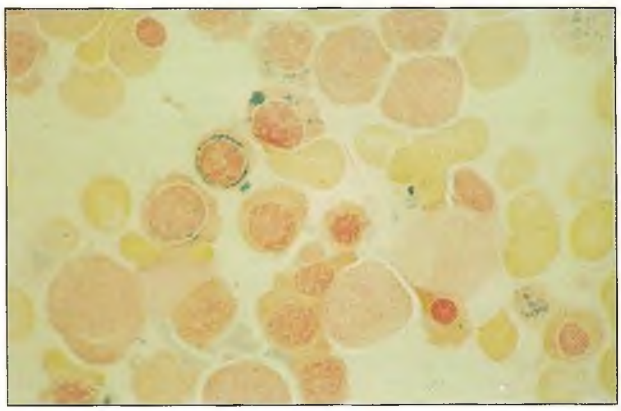


Figura 2.2. Siderocitos, sideroblastos y formas en anillo en un frotis de médula ósea (tinción de Perls, ×1.000).

eritropoyesis ferropénica; por el contrario, un atesoramiento férrico medular excesivo y patológico en las mitocondrias de los eritroblastos permite establecer el diagnóstico de anemia refractaria sideroblástica, si el número de sideroblastos anillados iguala o supera el 15% del total eritroblástico. El sideroblasto anillado queda definido por aquel sideroblasto cuyos gránulos sideróticos, en número generalmente superior a 10, circundan al menos un tercio del perímetro nuclear. La presencia de abundante hierro macrofágico junto a un reducido número de sideroblastos es característico de las anemias por bloqueo, generalmente secundarias a tumores, infecciones crónicas o colagenosis. Recientemente, se ha descrito una sobrecarga de hierro macrofágico no relacionado con la inflamación y debido a una deleción del gen de la ferroportina[4].

Otras técnicas citoquímicas han perdido auge en el diagnóstico hematológico tras la llegada de mejores marcadores. Es el caso de la reacción del PAS que, sin embargo, sigue teniendo interés en algunas entidades concretas. Así, una PAS-positividad eritroblástica es siempre anómala y debe interpretarse como un importante signo dismórfico eritroblástico, que puede encontrarse en la anemia de Cooley, en la eritremia aguda o en algunos síndromes mielodisplásicos. Una intensa PAS-positividad en mazacotes casi siempre excluye la leucemia aguda linfoblástica variedad L3, y apunta, con mucha probabilidad, a una leucemia linfoblástica común CD10 positiva.

Muchas otras reacciones citoquímicas completan el panel disponible. Lo importante es proceder a una adecuada selección de ellas en función del imprescindible conocimiento clínico y citomorfológico previo del caso. Para una correcta interpretación de los resultados es igualmente importante tener seguridad en el reconocimiento celular, por lo cual hay que obtener reacciones citoquímicas nítidas en células bien contrastadas y observadas por un profesional con experiencia citológica. En la tabla 2.2 se indican algunas reacciones citoquímicas aconsejables para la tipificación de las células hematopoyéticas.

TABLA 2.2

Reacciones histoquímicas útiles en la tipificación de las series hematopoyéticas

Serie eritroblástica
Reacción de Perls

Serie mieloide neutrófila
Mieloperoxidasa
Cloracetato esterasa
Negro Sudán B

Serie mieloide eosinófila
Mieloperoxidasa
Arilsulfatasa

Serie mieloide basófila
Triptasa
Omega-exonucleasa
Aminocaproesterasa

Serie monocítica
Esterasas inespecíficas (fluorurosensibilidad)
Muramidasa
N-acetil-beta-D-glucosaminidasa
Fosfatasa ácida (positividad difusa)

Serie linfoide T
Fosfatasa ácida (positividad unifocal/multifocal)
Betaglucuronidasa
Dipeptidilaminopeptidasa IV

Serie linfoide B
5'-Nucleotidasa

Serie plasmática
5'-Nucleotidasa
Fosfatasa ácida (positividad multifocal)
Betaglucuronidasa

Serie megacariocítica
Reacción del PAS
Esterasas inespecíficas
N-acetil-beta-D-glucosaminidasa

INMUNOCITOLOGÍA

La inmunocitología tiene como objetivo la detección, identificación y localización de diversos componentes celulares mediante el reconocimiento de la reacción entre éstos y los anticuerpos policlonales o monoclonales correspondientes, formándose un complejo antígeno-anticuerpo en el lugar de la reacción; esta unión puede visualizarse mediante fluorocromos (técnicas de fluorescencia), por medio de una reacción enzimática (peroxidasa, fosfatasa alcalina, glucosaoxidasa, galactosidasa), lo que constituye la inmunocitoquímica, o mediante metales electrondensos como la ferritina y el oro coloidal; otros productos, entre ellos los radiactivos, son cada vez menos utilizados.

Las enzimas más utilizadas son la peroxidasa y la fosfatasa alcalina en forma de complejos peroxidasa-antiperoxidasa (PAP) y fosfatasa alcalina-antifosfatasa alcalina (FAAFA), si bien en hematología se muestra una acusada preferencia por la fosfatasa alcalina, debido a la elevada actividad de peroxidasa endógena que poseen diversas células hematopoyéticas; dicha peroxidasa endógena debe ser bloqueada, lo que puede perjudicar a algunas estructuras antigénicas. La reacción antígeno-anticuerpo se pone en evidencia mediante una reacción enzimática que, en el caso de la FAAFA, da lugar a un precipitado de color rojo brillante, de intensidad variable según el grado de expresión antigénica.

Los métodos inmunoenzimáticos se realizan sobre frotis celulares o cortes histológicos. Existen varios métodos de marcado inmunoenzimático (directo, indirecto, indirecto en dos capas, indirecto con inmunoglobulina de puente, métodos de puente que utilizan complejos solubles PAP o FAAFA, etc.) y cuya descripción técnica sobrepasa la intencionalidad de este capítulo[1].

Las técnicas de inmunofluorescencia, sobre suspensiones celulares, en general, se realizan por citometría de flujo. Ésta destaca por la relevancia que ha alcanzado, tanto en la investigación básica como en el diagnóstico clínico, al constituir un complemento valioso de las técnicas clásicas utilizadas para el estudio de la morfología, de la biología y de la bioquímica celular. La citometría de flujo es un método rápi-

do, objetivo y cuantitativo de análisis de células y de sus componentes internos, cromosomas, plaquetas y otras partículas en suspensión. El principio en el que se basa esta tecnología es el de hacer circular, por una columna de flujo, células u otras partículas en suspensión, alineadas y de una en una, por delante de un haz luminoso (láser). La interacción del rayo luminoso con las células genera señales de distintas longitudes de onda, que son recogidas por detectores que generan, a su vez, impulsos eléctricos proporcionales a la cantidad de luz incidente. Estos impulsos eléctricos se amplifican y se convierten en señales digitales que se procesan en un ordenador. De esta forma, se permite el análisis cuantitativo y cualitativo de diferentes propiedades (multiparamétrico) de poblaciones celulares procedentes de líquidos corporales. La citometría de flujo ha evolucionado rápidamente con el uso de varios fluorocromos para la identificación de subpoblaciones celulares en una sola muestra. Actualmente, pueden utilizarse de forma simultánea cuatro fluorocromos sobre la misma célula, usando dos rayos láser.

Una de las aplicaciones más comunes de la citometría de flujo es la caracterización celular en diferentes estadios madurativos, mediante el uso de anticuerpos monoclonales conjugados con fluorocromos contra marcadores de superficie e intracitoplasmáticos.

La combinación de los parámetros de dispersión de la luz hacia delante y en ángulo recto permite diferenciar en sangre restos celulares, plaquetas, hematíes y leucocitos. Dentro de la población leucocitaria pueden diferenciarse linfocitos, monocitos, granulocitos neutrófilos y eosinófilos (fig. 2.3).

La citometría de flujo constituye, en la actualidad, uno de los principales métodos para el estudio y diagnóstico de las leucemias agudas, síndromes linfoproliferativos crónicos, caracterización inmunológica de las células plasmáticas, diagnóstico de la hemoglobinuria paroxística nocturna, seguimiento de la enfermedad mínima residual, estudio de apoptosis, etc. Las principales aplicaciones de la citometría de flujo en hematología se detallan en la tabla 2.3. Sin embargo, los pormenores de dicha técnica rebasan el contenido de esta obra, por lo que se remite al lector interesado a excelentes monográficos[5,6].

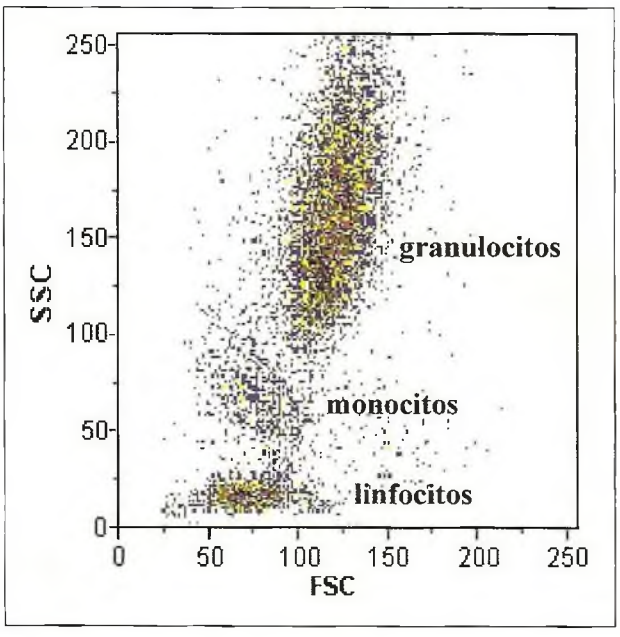


Figura 2.3. Histograma de sangre periférica normal en el que pueden diferenciarse granulocitos neutrófilos, linfocitos y monocitos.

TABLA 2.3

Principales aplicaciones de la citometría de flujo en hematología

- Diagnóstico de las leucemias agudas
- Diagnóstico de síndromes linfoproliferativos
- Diagnóstico de neoplasias de células plasmáticas
- Estudio de enfermedad mínima residual
- Diagnóstico de la hemoglobinuria paroxística nocturna
- Cuantificación de células CD34 en el trasplante de células hematopoyéticas
- Detección de células neoplásicas
- Detección del contenido de DNA celular
- Estudio de la función granulocitaria (capacidad fagocítica, quimiotaxis, etc.)
- Análisis de la apoptosis celular
- Recuento de reticulocitos
- Recuento de plaquetas reticuladas
- Detección de anticuerpos antiplaquetares
- Detección de marcadores de activación en granulocitos y plaquetas

Anticuerpos monoclonales de uso más frecuente en hematología. Sistema CD (*Cluster Designation*) de nomenclatura

Los métodos inmunológicos posibilitan la detección de antígenos, moléculas de inmunoglobulina y receptores de la membrana celular, que pueden ser específicos para una línea celular o para un estadio madurativo determinado. Existe una gran cantidad de anticuerpos monoclonales que han sido estudiados y valorados en los denominados talleres de trabajo. Se han agrupado anticuerpos monoclonales de características similares o idénticas, y se hallan definidos por un número. Un grupo o CD puede incluir una serie de anticuerpos monoclonales que detectan diferentes epítopos de una molécula y, por tanto, sus propiedades funcionales, bioquímicas y su reactividad con las células hematopoyéticas pueden no ser idénticas.

Las características y especificidades de los anticuerpos monoclonales más utilizados en hematología se detallan en la tabla 2.4.

Aplicaciones de la citometría de flujo en el diagnóstico hematológico

La experiencia ha demostrado que el inmunofenotipo representa una herramienta de primer orden en el diagnóstico hematológico. En este capítulo se hace referencia a las áreas en las que dicha metodología adquiere la máxima relevancia práctica (tabla 2.3).

Inmunofenotipo de las leucemias agudas

En las leucemias agudas debe realizarse un análisis con un mínimo de anticuerpos monoclonales que permita su diagnóstico inmunofenotípico. Es imprescindible el estudio de marca-

TABLA 2.4

Marcadores monoclonales de uso frecuente en el diagnóstico hematológico

Antígenos linfoides T

CD1 (T6, Leu-6, CD1a)

Se halla en los timocitos corticales y en las células de Langerhans; es una molécula asociada o muy relacionada con la beta-2 microglobulina. Dentro de la diferenciación linfoide T se expresa exclusivamente en los linfocitos (timocitos) del córtex. Ausente en los linfocitos de sangre periférica

CD2 (T11, Leu-5, receptor SRBC, antígeno de función leucocitaria-2, LFA-2)

Se halla en las células pro y pre-T, timocitos y células NK. Es el receptor de las rosetas de carnero

CD3 (T3, Leu-4)

Pan T. Se expresa en la mayoría de los linfocitos T de órganos linfoides periféricos y en la membrana de los timocitos en estadios tardíos de la diferenciación intratímica; en el citoplasma su expresión es más temprana. Está formado por un complejo de tres proteínas (γ, δ, ε) en la membrana del linfocito. Existen otras dos proteínas (ξ y η) que se asocian al CD3 ya sea en forma de homodímero (ξ-η) o en forma de heterodímero (ξ-ξ). Se halla íntimamente asociado a la molécula del receptor de células T formando en la membrana del linfocito el complejo T3-Ti

CD4 (T4, Leu-3a, 3b)

Se halla en una subpoblación de timocitos, de linfocitos T (subpoblación colaboradora-inductora). También se halla en monocitos, *stem cells* hematopoyéticas, células dendríticas y eosinófilos. Los timocitos del córtex coexpresan CD4 y CD8; en los últimos estadios de la diferenciación intratímica, con la adquisición de la inmunocompetencia las células expresarán uno u otro. Es el receptor del VIH

CD5 (Leu-1)

Pan T. Se expresa de forma débil en estadios tempranos de la diferenciación intratímica y fuerte en los linfocitos T de sangre periférica. También se encuentra en una subpoblación de linfocitos B y células de síndromes linfoproliferativos crónicos como la LLC-B

CD7 (Leu-9)

Es el primer antígeno que se expresa en los protimocitos. Se mantiene a lo largo de la diferenciación tímica, y se expresa en el 85% de los linfocitos T de sangre periférica. El antígeno es el receptor para la IgM

CD8 (T8, Leu-2)

Se halla en los timocitos, en la subpoblación supresora citotóxica y en la subpoblación de células NK (CD57+). Véase CD4

Antígenos linfoides B

CD19 (B4, Leu-16)

Es el pan B específico más amplio, aparece en el precursor de médula ósea y desaparece en la célula plasmática. No se pierde con la activación

CD20 (B1, Leu-16)

Se halla en los linfocitos B, aparece a partir de la célula pre-B y persiste hasta la célula plasmática

CD21 (B2, B3, CR2, receptor EVB, receptor C3d)

Se expresa de modo muy fuerte en la célula reticular dendrítica y en los linfocitos B. Se pierde con la activación. Actúa como receptor C3d del complemento y como receptor del virus de Epstein-Barr

CD22 (B5, Leu-14)

Es un marcador específico de los linfocitos B. Aparece en la membrana a partir de la célula pre-B; en el citoplasma su expresión es más temprana, y persiste hasta la célula plasmática en que desaparece

CD38 (T10)

Se halla en células hematopoyéticas precursoras, células plasmáticas, células B y T activadas

Antígenos de activación linfoide

CD23 (B6, Leu-20, Blast-2, FcR-II)

Células B activadas, células foliculares dendríticas

CD25 (antígeno TAC, cadena α del receptor de IL-2)

Se halla en linfocitos T y B activados y en monocitos. El antígeno es el receptor de la interleucina 2

CD30 (Ki-1, antígeno Ber-H2)

En blastos T y B activados (inmunoblastos). En linfomas de células grandes, células inmunoblásticas o anaplásicas. Presente en la célula de Reed Sternberg y célula de Hodgkin

CD71 (T9)

Es el receptor de la transferrina; su expresión se asocia a la proliferación celular independiente de su origen hematopoyético o no hematopoyético

Antígenos de diferenciación no específicos y de células* natural killer *(NK)

CD11

Familia de tres moléculas denominada LFA/Mac-1, que presentan dos cadenas polipeptídicas alfa y beta. La cadena alfa es diferente en cada una de las tres moléculas $alfa_1$, $alfa_2$, $alfa_3$ y la cadena beta es común (CD18) con un peso molecular de 95 kD

(*Continúa*)

TABLA 2.4

Marcadores monoclonales de uso frecuente en el diagnóstico hematológico (*Cont.*)

CD11a
Cadena alfa de la molécula LFA-1. La molécula completa tiene un peso molecular de 180 ± 95 kD. Es un pan leucocitario
CD11b
Cadena alfa de la molécula Mac-1. La molécula completa tiene un peso molecular de 170 ± 95 kD. Es el receptor de C3bi. Se halla en neutrófilos y monocitos
CD11c
Cadena alfa de la molécula p150,95. La molécula completa tiene un peso molecular de 150,95 kD. Se halla en tricoleucocitos, granulocitos y monocitos
CD18 (cadena β de las integrinas β_2)
Cadena beta de las moléculas LFA-1, Mac-1, p150,95
CD16 (Leu-11, FcγRIII)
Se halla en granulocitos, células NK y algunos macrófagos
CD45 (LCA, antígeno leucocitario común, Leu-18)
Pan leucocitario
CD45RA: células B, subtipos de células T, monocitos/macrófagos
CD45RB: células B, subtipos de células T, monocitos/macrófagos, granulocitos
CD45RO: células T, subtipos de células B, monocitos/macrófagos
CD56 (NKH-1, Leu-19, N-CAM)
Se halla en células NK, células neuroectodérmicas
CD57 (HNK-1, Leu-7)
Se halla en células NK, un subgrupo de células T, algunas células B, monocitos y células de mieloma
CD54 (ICAM-1)
Ligando de LFA-1. Se halla en células endoteliales, linfocitos activados, células epiteliales

Antígenos de diferenciación mieloide
CD13 (Leu-M-7, My7)
Se halla en la célula progenitora granulomonocítica, promielocitos, metamielocitos, granulocitos, monocitos, promonocitos
CD14 (My4, Leu-M3)
Se halla en monoblastos, promonocitos, monocitos, también puede hallarse en el citoplasma de células mieloides
CD15 (Leu-M1, Lewis x, Le^x)
Se expresa en los granulocitos en estadios tardíos de diferenciación, y en la célula de Hodgkin y de Reed Sternberg
CD33 (My9)
Se halla en la célula multipotente eritro-mega-monogranulocítica. Se halla presente en mieloblastos, promielocitos, mielocitos, monoblastos, promonocitos y monocitos; en la serie mieloide su expresión se detiene en el mielocito, en la monocítica en el monocito y en las series eritroide y megacariocítica se pierde cuando aún no se reconocen como tales
CD34 (My10, sgp)[90]
Presente en la célula madre hematopoyética pluripotente y se pierde con la diferenciación; el promielocito es negativo
CD68
Es el mejor marcador de la serie monocítica
MOP-7
Detecta la proenzima de la mieloperoxidasa

Antígenos marcadores de la serie eritroide
CD71 (T9)
El antígeno es el receptor de la transferrina. Se halla presente desde los primeros estadios de la diferenciación eritroide. No es específico de esta línea, se halla en células proliferativas tanto normales como neoplásicas
Glucoforina A
Presente en los eritroblastos maduros y en los eritrocitos

Antígenos de diferenciación de la serie megacariocítica
CD61
Glucoproteína IIIa. Es el primer antígeno que se detecta en esta serie en la célula progenitora megacariocítica (CFU-MK)
CD41 (Integrina αIIb)
Glucoproteína IIb/IIIa. Se halla en megacariocitos, plaquetas y megacarioblastos. Aparece después de la glucoproteína IIIa
CD42
Glucoproteína Ib. Se halla en megacariocitos y plaquetas. Es el antígeno de aparición más tardía

TABLA 2.4

Marcadores monoclonales de uso frecuente en el diagnóstico hematológico (*Cont.*)

Otros antígenos

Ki-67

Es un antígeno nuclear indicador de proliferación, que se expresa en las células proliferantes durante las fases G1 tardía, S, M y G2 de ciclo celular

TdT

Transferasa terminal deoxinucleotidílica. Es un marcador linfoide que se halla en las células T y B inmaduras, su expresión se pierde en las células T, en el timocito medular maduro (CD 3+) y en la célula B al aparecer las Ig citoplasmáticas

HLA-DR

Se halla en los linfocitos B y en los monocitos. Los linfocitos T, granulocitos y los megacariocitos son negativos. La célula precursora granulo-eritro-mono-megacariocítica es positiva al igual que los diversos precursores comprometidos

CD10 (cALLa)

Se halla en diversos tipos celulares como en los granulocitos, macrófagos, células del epitelio renal, fibroblastos, etc. En hematología se usa como marcador de la leucemia aguda linfoblástica común

CD95

Es el antígeno FAS que unido a su ligando interviene en la apoptosis

CD117 (receptor de stem cell factor, *c-kit*)

C-kit ligando presente en células germinales y en las mastocitosis

dores citoplasmáticos que definan la línea celular implicada; para la línea B, se utiliza el CD79a/CD22; para la línea T, el CD3, y para la línea mieloide, la mieloperoxidasa (MPO). Es recomendable el empleo simultáneo de marcadores citoplasmáticos y de membrana que permitan identificar con mayor exactitud la población blástica (v. tabla 19.4). La utilización del anticuerpo panmieloide CD45 combinado con el SSC (*side scatter*) es de gran utilidad, pues permite una mejor identificación y caracterización fenotípica de las células leucémicas. Dicho proceder es el más idóneo para el diagnóstico de las leucemias agudas mieloides tipo M0 y M7, leucemias híbridas y para conocer expresiones antigénicas aberrantes que confieren a determinadas leucemias un especial mal pronóstico. Así, por ejemplo, la expresión de la transferasa terminal o del CD7 se ha referido en el 10% de las leucemias agudas mieloblásticas, y la del CD13, en el 10% de las leucemias agudas linfoblásticas, ensombreciendo aún más la posibilidad de éxito terapéutico. También es de gran utilidad en el seguimiento de la enfermedad mínima residual[7].

En algunos casos, basándose en el patrón inmunofenotípico de las células blásticas, puede establecerse una elevada sospecha de alteraciones citogenéticas específicas como: t(15;17); t(9;22); t(8;21); inv16 y alteración en 11q23[7].

La clasificación inmunológica de uso corriente en la leucemia aguda mieloide y en la leucemia aguda linfoide se detalla en las tablas 19.5, 19.21 y 19.23.

El inmunofenotipo y la citogenética han proporcionado mucha información en el diagnóstico y pronóstico de las leucemias agudas. La clasificación de las leucemias agudas, recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) –que se comentará en el Capítulo 19–, se basa en datos morfológicos, inmunofenotípicos y genéticos.

Inmunofenotipo de los síndromes linfoproliferativos crónicos

La utilización de la citometría de flujo en el estudio de los síndromes linfoproliferativos crónicos posee una especial relevancia al permitir un diagnóstico diferencial rápido entre una linfocitosis reactiva y una proliferativa monoclonal. La utilización del triple marcaje con CD19/kappa/lambda es de gran utilidad en la detección de la monoclonalidad B en sangre periférica, médula ósea, ganglio y otros líquidos corporales (fig. 2.4). El inmunofenotipo permite la clasificación diagnóstica de los síndromes linfoproliferativos B, T y NK. Además, dentro de cada uno de estos subtipos se han podido definir subgrupos inmunofenotípicamente diferentes con características clínico-biológicas específicas[5,8].

En la tabla 2.5 se anotan los principales marcadores inmunológicos útiles en el diagnóstico diferencial de los síndromes linfoproliferativos B con expresión hemoperiférica, y en la tabla 2.6, los correspondientes a los síndromes linfoproliferativos T.

Otras aplicaciones de la citometría en hematología

El inmunofenotipo de las poblaciones linfoides B, T y células NK, así como la cuantificación de células T colaboradoras y supresoras, resulta imprescindible en la evaluación de la inmunidad celular[5,6].

En el campo del trasplante y movilización de células hematopoyéticas, la citometría de flujo es de gran utilidad, ya que permite una cuantificación del número de células CD34 de forma muy rápida[9].

Aplicación de la inmunocitoquímica en el diagnóstico hematológico

La inmunocitoquímica ofrece una valiosa información complementaria a la citometría de flujo. Sobre todo, en aquellos casos en los que se dispone de poco material, en tejidos con poca representación de la celularidad neoplásica o en situaciones en las que interesa valorar la morfología de la célula patológica[1] (fig. 2.5).

Otra aplicación, es la detección de proteínas que reconocen genes de fusión. Así, mediante el anticuerpo monoclonal (Pg3) que detecta la proteína PML y reconoce el gen de fusión *PML/RARα*, se evidencia, en los promielocitos que presentan la t(15;17), un precipitado puntiforme múltiple a nivel del núcleo muy característico, en tanto que las células normales sólo ofre-

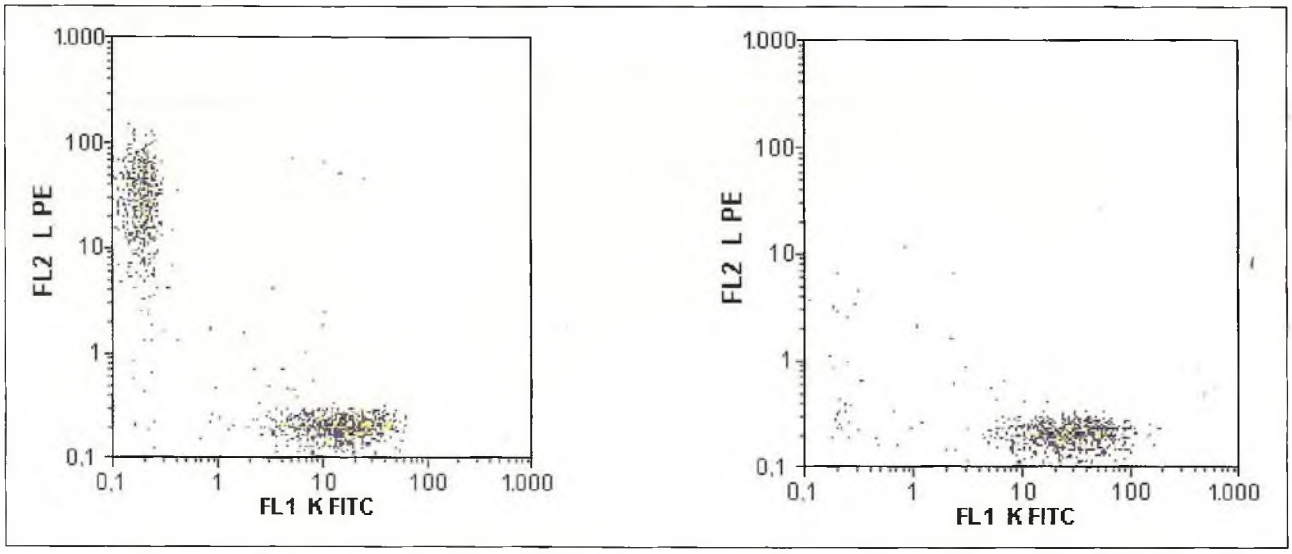


Figura 2.4. En la imagen de la izquierda se observa una población B policlonal, y en la de la derecha, una población B clonal kappa.

TABLA 2.5

Marcadores inmunológicos característicos de síndromes linfoproliferativos B

	IgS	CD5	CD23	FMC7	CD22	CD79b
LLC-B	+/–	++	++	–/+	–/+	–/+
LPC-B	++	–/+	–	++	+	++
TL	++	–	–	++	++	+
TL-V	++	–	–	++	++	+
LECV	++	–/+	–/+	++	++	++
LF	++	–/–	–/+	++	++	++
LM	++	++	–	++	++	++
LCG	++	–/+	–/+	++	++	++

LLC-B: leucemia linfática crónica B; LPC-B: leucemia prolinfocítica crónica B; TL: tricoleucemia; TL-V: tricoleucemia variante; LECV: linfoma esplénico de células vellosas; LF: linfoma folicular; LM: linfoma del manto; LCG: linfoma de células grandes.

TABLA 2.6

Marcadores inmunológicos en síndromes linfoproliferativos T

Anticuerpo monoclonal	LPC-T	LLGG**	LLTA	SS
CD2	11	11	11	11
CD5	11	1	11	11
mCD3*	1	11	1	11
CD7	11	1	–/1	1
CD41CD8–	1	–/1	11	11
CD41CD81	–/1	–	–	–
CD4-CD81	–/1	11	–	–
CD25	–/1	–/1	11	–/1

LPC-T: leucemia prolinfocítica crónica T; LLGG: leucemia de linfocitos grandes granulares; LLTA: leucemia linfoma T del adulto; SS: síndrome de Sézary.
*Expresión de CD3 en la membrana. Generalmente, la expresión de CD3 es citoplasmática.
**Una parte de los pacientes afectados de LLGG son CD2+ y poseen un fenotipo *natural killer* (CD56+ con o sin expresión de CD11b y CD16).
(–): negativo o positivo en < 10% de casos; –/+: positivo en un 10-25% de los casos; +: positivo en un 25-75% de los casos; ++: positivo en > 75% de los casos.

cen un número muy reducido de señales. Esta técnica permite en un par de horas saber si existe la t(15;17)[10]. La puesta en evidencia de micrometástasis neoplásicas, la diferenciación entre leucemia aguda y tumores de la infancia de células pequeñas y redondas, y la distinción entre linfomas anaplásicos y carcinomas metastásicos, son otras de las situaciones en las que la inmunocitoquímica puede resultar de gran utilidad.

Cuando las células epiteliales metastásicas se constituyen en extensas placas en medio de una celularidad hematopoyética global escasa, su reconocimiento resulta fácil, pero pueden pasar inadvertidas cuando se trata de metástasis aisladas que se entremezclan con una abundante celularidad hematopoyética. En tales circunstancias, el empleo de anticuerpos antifilamentos intermedios aumenta la frecuencia de su detección (tabla 2.7).

Las metástasis masivas medulares del neuroblastoma, rabdomiosarcoma (fig. 2.6), sarcoma de Ewing, melanoma y cáncer anaplásico de pulmón pueden simular una invasión leucémica. La positividad de las células neoplásicas para la citoqueratina descubrirá su verdadero origen[1].

CULTIVOS CELULARES *IN VITRO*

Los sistemas de cultivo *in vitro* han contribuido de forma decisiva al conocimiento de la hematopoyesis humana tanto en situaciones fisiológicas como patológicas. Las células germinales hematopoyéticas no poseen distintivos morfológicos

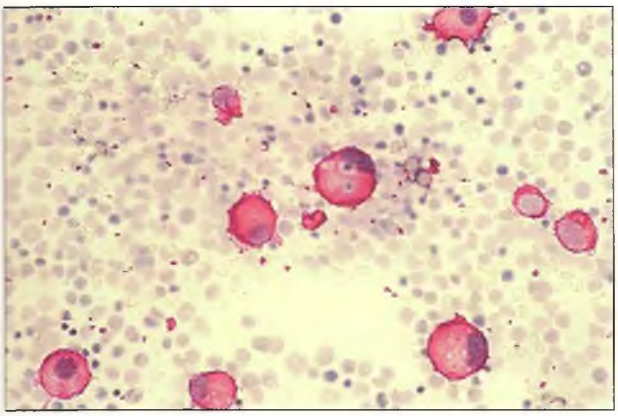


Figura 2.5. Varios megacariocitos CD41+ en un síndrome 5q– (técnica inmunocitoquímica FAAFA, ×1.500). Adviértase la característica hipolobulación megacariocítica del síndrome.

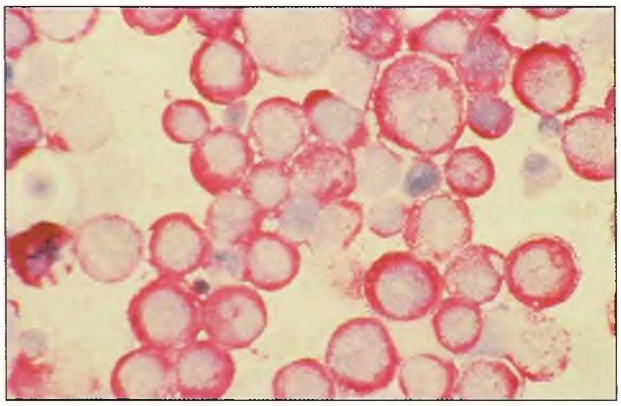


Figura 2.6. Rabdomioblastos positivos para desmina (técnica inmunocitoquímica FAAFA, ×1.000).

TABLA 2.7

Aplicación de anticuerpos antifilamentos intermedios en células tumorales para establecer su filogenia

Filamento intermedio	Tejido	Neoplasia
Citoqueratina(s)	Epitelial	Carcinomas
Vimentina	Mesénquima	Sarcomas, melanomas, etc.
Desmina	Músculo	Rabdomiosarcoma, leiomiosarcoma
Neurofilamentos	Tejido nervioso	Neuroblastoma
Proteína fibrilar glial ácida		Astrocitoma

precisos que les permitan ser reconocibles. Dada esta circunstancia, es obvio que las técnicas de cultivo *in vitro* hayan supuesto una de las bases fundamentales para su estudio.

Inicialmente, se demostró, *in vivo*, la existencia de una célula hematopoyética pluripotente murina. Este hallazgo se debe a los estudios realizados por Till y Mc Culloch[11] en 1961. Estos autores, al trasplantar médula ósea isogénica a ratones irradiados letalmente, observaron el crecimiento de unos nódulos en el bazo (nódulos esplénicos) constituidos por granulocitos, eritroblastos, células del sistema mononuclear fagocítico y células mononucleadas no identificables. Al inocular estas últimas células a otros ratones irradiados, crecían nuevos nódulos esplénicos. Estas células, por tanto, cumplen los atributos obligados de las células germinales: capacidad de proliferación, diferenciación y autorrenovación, y se conocen como CFU-S (*colony forming unit-spleen*).

Posteriormente, se desarrollaron las técnicas de cultivo *in vitro* de los diferentes progenitores hematopoyéticos comprometidos de la médula ósea de ratón, que fueron adaptándose para la médula ósea humana. Así, en la actualidad, se dispone de métodos de cultivo para: la célula germinal granulomonocítica (CFC-GM), eritroide (BFU-E, CFU-E), megacariocítica (BFU-Meg, CFU-Meg) y linfoide T y B. Con las distintas técnicas, los diferentes progenitores son capaces de formar colonias constituidas por elementos en todos los estadios evolutivos de la línea hematopoyética a la que pertenecen (figs. 2.7-2.9).

La puesta en marcha de la técnica de cultivo *in vitro* para la célula hematopoyética pluripotente humana supuso muchas dificultades, y su logro se debe a los estudios realizados por Fauser y Messner[12] en 1978.

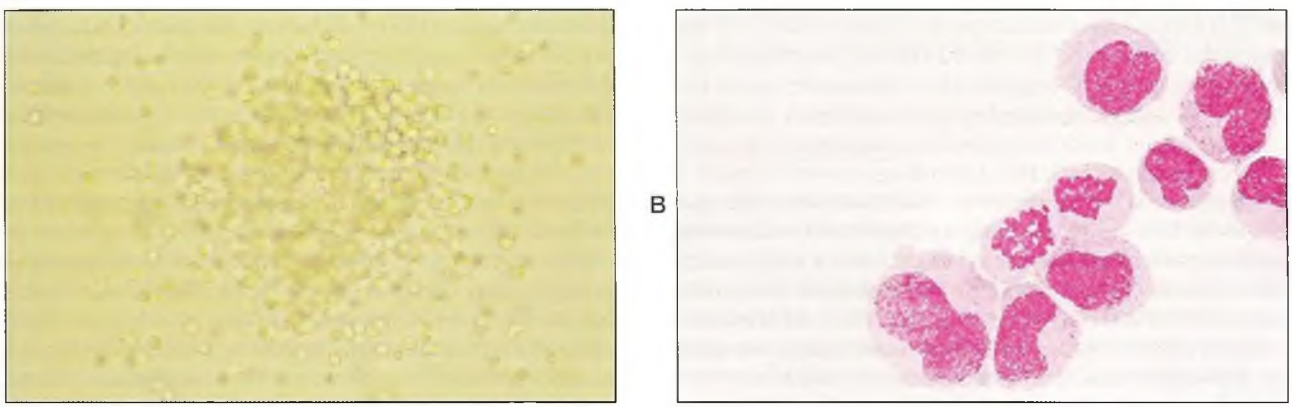


Figura 2.7. a) Colonia granulomonocítica de médula ósea (×125). **b)** Aspecto morfológico de la colonia (May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

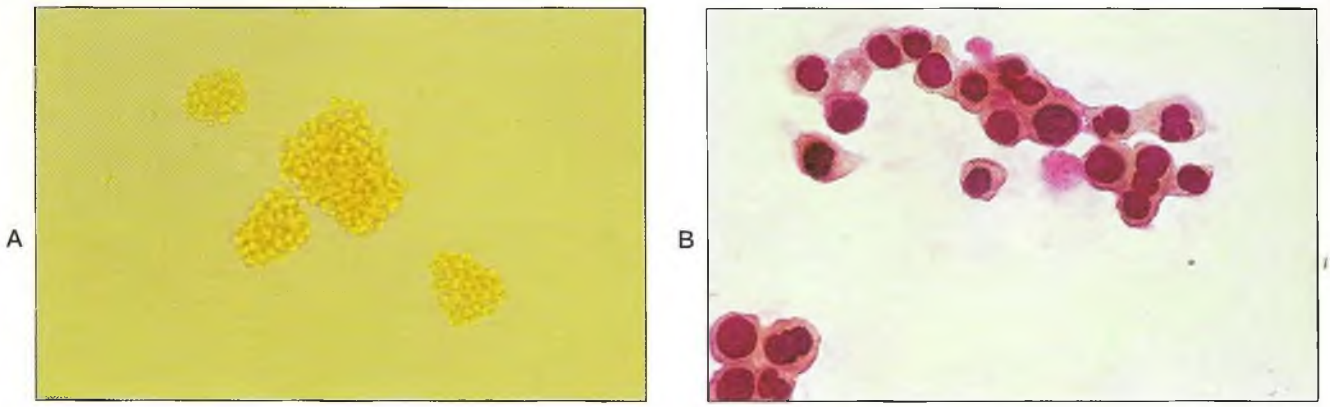


Figura 2.8. **a)** Colonia eritroide derivada de un BFU-E (×125). **b)** Aspecto morfológico de la colonia (May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

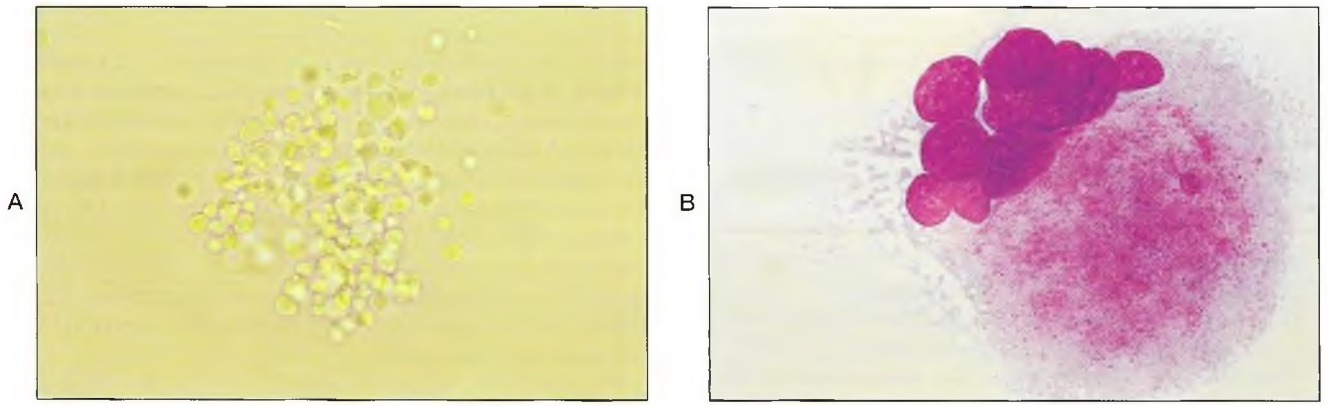


Figura 2.9. **a)** Colonia megacariocítica (×125). **b)** Aspecto morfológico de un megacariocito maduro de una colonia (May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

Existen distintos sistemas de cultivo *in vitro*: semisólido, líquido y a largo plazo. En los *cultivos semisólidos* las células de médula ósea, sangre periférica o cordón umbilical se siembran en un medio que contiene una matriz (agar, colágeno o metilcelulosa) para inmovilizar a las células, factores nutritivos, factores estimulantes de colonias (FEC) e interleucinas (IL). Se incuban a 37 °C, a una concentración de CO_2 del 5% y durante un tiempo variable. Los progenitores granulomonocíticos (CFC-GM) producen agregados (grupos de menos de 50 células) y colonias (grupos de más de 50 células) en una relación de 10 agregados por 1 colonia. Los progenitores eritroides (BFU-E) forman unas colonias que están constituidas, a su vez, por varias colonias de más de 50 células. Los progenitores megacariocíticos (CFC-Meg) producen colonias de más de tres células. Cada colonia procede de un progenitor y, en condiciones normales, todos los progenitores requieren para su crecimiento la presencia de FEC. Los *cultivos en medio líquido*, a excepción de la matriz, tienen los mismos constituyentes que el cultivo semisólido, y se utilizan para analizar diferentes parámetros del desarrollo celular. En los *cultivos a largo plazo*, el crecimiento de los progenitores hematopoyéticos se produce sin adición de FEC, y depende de las células de la estroma medular, obtenidas previamente en un cultivo que se mantiene durante varios meses. Estas técnicas confieren una herramienta de gran valor para el estudio de los mecanismos moleculares implicados en el proceso de proliferación celular y su explotación para diversas aplicaciones terapéuticas. Existe un amplio abanico de situaciones en las que el estudio de las células hematopoyéticas mediante cultivo *in vitro* ofrece gran ayuda[13-15]. En la tabla 2.8 se citan distintas entidades patológicas en las que el cultivo *in vitro* tiene un interés reconocido.

Cultivos *in vitro* en las leucemias agudas

En el momento del diagnóstico, los patrones de crecimiento *in vitro* de las células progenitoras granulomonocíticas presentan diferencias entre las leucemias linfoblásticas y las no linfoblásticas. Los blastos de la leucemia linfoblástica tienen poca o nula capacidad de crecer *in vitro*. En los pacientes con leucemia aguda no linfoblástica (LANL) puede observarse un crecimiento atípico de los elementos blásticos medulares, con una relación colonia-agregado anómala. Se reconocen dos grandes tipos de crecimiento: el denominado «no leucémico» y el «leucémico». En el primero, existe una escasa formación de colonias, mientras que en el segundo, se registra un crecimiento de un elevado número de agregados (agrupaciones celulares de menos de 50 células). A estos patrones de crecimiento se les atribuye un valor pronóstico altamente significativo, relacionándose a los leucémicos con escasas remisiones completas, y a los no leucémicos, con un mejor pronóstico. Los progenitores eritroides y megacariocíticos (BFU-E y BFU-Meg) suelen estar muy descendidos.

TABLA 2.8

Cultivo *in vitro* de células progenitoras granulomonocíticas (CFU-GM) en diversas hemopatías

Diagnóstico	Crecimiento
Leucemia aguda linfoblástica	**Nulo/escaso**
Leucemia aguda no linfoblástica	**Escaso/nulo**
Anemia refractaria	**Normal**/leucémico*
Anemia refractaria sideroblástica	**Normal**/leucémico*
Anemia refractaria con exceso de blastos	**Leucémico/escaso**/normal
Leucemia mielomonocítica crónica	**Aumentado****/leucémico*
Leucemia mieloide crónica	**Aumentado*****/leucémico*

*Crecimiento a expensas de agregados (< 50 células) con escasas colonias (> 50 células).
**Predominio de colonias monocitico-macrofágicas.
***Predominio de colonias granulocíticas.
En **negrita** se destaca el patrón más frecuente de crecimiento.

En términos generales, la normalización de los patrones de crecimiento de CFC-GM durante el tratamiento de la LANL se ha esgrimido como indicador de remisión hematológica, mientras que la persistencia de un patrón de crecimiento anómalo después de alcanzar la remisión completa, generalmente, anuncia una recaída leucémica[13,14].

Cultivos *in vitro* en los síndromes mielodisplásicos

Los cultivos *in vitro* de los distintos progenitores mieloides han sido objeto de numerosos estudios, aunque el de la célula granulomonocítica ha sido al que se le ha prestado mayor atención y el que más ha contribuido a perfilar las distintas variedades de síndromes mielodisplásicos[15,16].

En líneas generales, en cada tipo de síndrome mielodisplásico existe un comportamiento *in vitro* heterogéneo, aunque puede precisarse que en la anemia refractaria simple (AR) y en la refractaria sideroblástica (ARS) existe un claro predominio de patrones normales de crecimiento de CFC-GM, mientras que en la anemia refractaria con exceso de blastos (AREB) sobre todo en la variedad AREB II de la clasificación de la OMS, el crecimiento se asemeja, en la mayoría de los pacientes, al observado en la leucemia aguda mieloide. La leucemia mielomonocítica crónica (LMMC) presenta, en la gran mayoría de los pacientes, un patrón muy característico que se manifiesta con un exuberante crecimiento de agregados y de colonias constituidas, la mayor parte de ellas, por monocitos y macrófagos. Asimismo, presenta la peculiaridad de que el crecimiento puede tener lugar en ausencia de factor estimulante de colonias (FEC) en el medio de cultivo, a diferencia del resto de síndromes mielodisplásicos, en los que el crecimiento de CFC-GM requiere la presencia constante de FEC. Este comportamiento permite diferenciar la LMMC del resto de síndromes mielodisplásicos y de la leucemia mieloide crónica (LMC); en ésta también existe un exuberante crecimiento *in vitro*, pero éste es a expensas de progenitores neutrófilos y es más dependiente de los factores de crecimiento.

El patrón de crecimiento normal traduciría una fase inicial de la enfermedad en la que existe poca participación de la clona leucémica frente a la normal. La reducción de las colonias y el exceso de agregados (patrón leucémico) traduce una fase más avanzada y de cronicidad en la que existe un comportamiento clonal patológico aumentado con características leucémicas. La ausencia total de crecimiento representaría la abolición de la clona normal y la incapacidad de la patológica para crecer *in vitro*, circunstancia que se registra en la fase final de la evolución natural del síndrome mielodisplásico. Un crecimiento normal, al contrario del anómalo, se asocia en los SMD a una escasa probabilidad de desarrollar una leucemia aguda y a un curso clínico estable[13,14,16,17].

Cultivos *in vitro* en los síndromes mieloproliferativos crónicos

Los cultivos alcanzan su mayor valor diagnóstico en el estudio de los síndromes mieloproliferativos crónicos (SMPC), especialmente en la trombocitemia esencial (TE) y en la policitemia *vera* (PV), ya que permiten diferenciarlas, en la mayoría de los casos, de trombocitosis reactivas (TR) y poliglobulias secundarias (PS). Se ha constatado que en los SMPC existe un incremento de progenitores mieloides medulares y sanguíneos, con la característica de formar colonias eritroides y megacariocíticas en ausencia de eritropoyetina y de trombopoyetina en el medio de cultivo, respectivamente (crecimiento endógeno)[17-21]. En la fase crónica de la LMC, el aumento de CFC-GM se normaliza con la quimioterapia. Puede observarse, además, crecimiento endógeno de BFU-E y CFC-Meg. La aparición de un cambio de crecimiento de CFU-GM, a expensas de agregados y escasas colonias suele preceder a la fase blástica. En ésta, los cultivos se comportan como en la leucemia aguda mieloide (LAM). En la PV el crecimiento endógeno de BFU-E es un dato constante que permite diferenciarla de las poliglobulias secundarias, y es reconocido como criterio diagnóstico positivo. En la mayoría de pacientes con TE se observa crecimiento endógeno de CFU-Meg, que puede ir acompañado de crecimiento endógeno de BFU-E. Este comportamiento se considera como específico y muy sensible para diferenciar la TE de la TR. La disponibilidad de los cultivos en estos casos es muy útil, ya que el diagnóstico de TE es de exclusión y a veces puede ser difícil diferenciarla de la TR. Un gran incremento de progenitores circulantes con crecimiento endógeno de BFU-E y CFU-Meg variable es característico de la metaplasia mieloide agnogénica[18-22] (tabla 2.9).

Cultivos *in vitro* en la aplasia medular y otras citopenias

Los cultivos de progenitores mieloides y de la estroma medular han permitido discernir alguno de los mecanismos implicados en esta entidad, como los inmunológicos o los defectos intrínsecos de las células hematopoyéticas. Los cultivos *in vitro* permiten detectar un pequeño grupo de pacientes cuya citopenia está mediada por procesos inmunológicos que suprimen la función hematopoyética, pudiéndose beneficiar de un tratamiento inmunosupresor. En estos casos, se observa un escaso o nulo crecimiento de progenitores medulares.

TABLA 2.9

Síndromes mieloproliferativos crónicos y otros procesos proliferativos secundarios: número de progenitores mieloides circulantes y su capacidad de crecimiento endógeno *in vitro*

Diagnóstico	CFU-GM		BFU-E		CFU-Meg	
	Número	Endógeno	Número	Endógeno	Número	Endógeno
Policitemia *vera*	N/↑	–	↑	++	N/↑	–/+
Poliglobulia secundaria	N	–	N/↑	–	N	–
Trombocitemia esencial	N/↑	–/+	N/↑	+/–	↑	++
Trombocitosis secundaria	N	–	N/↑	–	N/↑	–
Metaplasia mieloide agnogénica	↑	+	↑	+	↑↑	+/++
Leucemia mieloide crónica	↑	+/–	N/↑	–/+	N/↑	+/–

N: normal; ↑: aumento; –: ausencia de crecimiento endógeno; +: presencia de crecimiento endógeno.

La detección de mecanismos inmunológicos se realiza mediante el cocultivo de células progenitoras mieloides medulares normales con linfocitos de sangre periférica del paciente. La localización de factores humorales (inhibidores séricos) puede llevarse a cabo mediante el cocultivo de progenitores mieloides medulares normales con suero del paciente.

Cuando el cultivo *in vitro* de médula ósea de un paciente con aplasia medular evidencia un número de CFU-GM significativo y no pueden detectarse inhibidores (humorales o celulares), debe sospecharse la existencia de una alteración del microambiente medular y, en especial, de la estroma, cuyo estudio puede realizarse mediante el cultivo *in vitro* de fibroblastos medulares. En todas estas situaciones, los cultivos *in vitro* tienen especial interés, ya que permiten matizar y utilizar terapéuticas individuales más ajustadas[13,14].

Trasplante de médula ósea y de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica y cordón umbilical

El control de viabilidad *in vitro* de las muestras celulares, manipuladas *ex vivo* (separaciones celulares, congelaciones, etc.), se lleva a cabo básicamente mediante la técnica de cultivo *in vitro* de los progenitores mieloides, siendo los granulomonocíticos los más utilizados. Su valor como control en este campo está bien establecido y constituye una práctica habitual en la mayoría de laboratorios en los que se efectúa la criopreservación. Su resultado proporciona información acerca de los posibles deterioros celulares que puedan ocasionar dichas técnicas. El valor predictivo del cultivo de progenitores granulomonocíticos CFC-GM en relación con la implantación de médula ósea está muy debatido. En el período postrasplante, la monitorización de la hematopoyesis tiene un interés obvio, y se efectúa sobre todo mediante el cultivo *in vitro* de los progenitores mieloides.

ULTRAESTRUCTURA

La microscopia electrónica ha abierto amplios horizontes en todas las ramas de la biología y ha supuesto un notable avance en el estudio de las células hematopoyéticas. El examen ultraestructural aporta datos de innegable valor, consiguiendo una mayor precisión diagnóstica no sólo a través del descubrimiento de anomalías que pasan inadvertidas con el microscopio fotónico sino también por lograr una identificación más concreta de otras alteraciones con traducción óptica. A título de ejemplo, basta citar la filiación correcta de una leucemia aguda, aparentemente indiferenciada, o la catalogación exacta de una anemia diseritropoyética congénita.

A pesar de ello, no ha sido fácil la introducción del estudio ultraestructural en el terreno de la clínica hematológica, ya que las técnicas de elaboración de las células hemáticas son delicadas, y requieren una labor tenaz y una gran dedicación. Sin embargo, el elevado número de publicaciones que se complementan con un estudio ultraestructural es un claro índice del reconocimiento conseguido por la microscopia electrónica, de forma que todo hematólogo que pretenda estar al día ha de estar familiarizado con la imagen ultraestructural, la cual no debe considerarse como un estudio aparte sino como la continuación de la imagen óptica. El conocimiento de los aspectos ultraestructurales de las células normales y anómalas es una necesidad para el hematólogo en formación. El gran poder resolutivo del microscopio electrónico permite contemplar un sinfín de situaciones con una perspectiva más amplia, mediante la visualización de las diversas estructuras celulares.

Las células pueden cortarse en miles de secciones en las que aparecen las organelas, realizándose una auténtica «autopsia celular». Un eficaz complemento de la microscopia electrónica de transmisión lo constituye la microscopia electrónica de barrido que, al permitir estudiar las superficies de las células enteras, resulta especialmente útil en el examen de las poblaciones linfocitarias, en el de los cambios estructurales superficiales de los leucocitos en movimiento y en la apreciación de la configuración eritrocitaria. La incorporación de nuevas técnicas a la práctica diagnóstica, como la citoquímica y, sobre todo, la inmunocitohistoquímica ultraestructural y el microanálisis con rayos X, despliegan un amplio abanico de posibilidades. La ultraestructura se ha considerado como una ciencia de gran alcance estético, y su relativa falta de objetivación se ha ironizado con el calificativo de «impresionista». En un intento de conferir una mayor solidez a las observaciones microscópicas ultraestructurales, la mayoría de autores intenta cuantificar los resultados mediante potentes programas informáticos, dando origen a la morfometría electromicroscópica, otro eficaz complemento de la ultraestructura cualitativa.

Al igual que en la histología convencional, el procesamiento metodológico de la muestra celular comprende las etapas

de fijación, deshidratación, inclusión, corte y contrastado de las diversas organelas con metales pesados; esta última etapa es equivalente a la tinción en microscopia óptica[23].

El estudio electromicroscópico es muy aconsejable en algunas evaluaciones hematológicas, e imprescindible en otras (tabla 2.10). Así, en la *serie eritropoyética* no se puede prescindir del examen ultraestructural al catalogar determinados tipos de anemias diseritropoyéticas congénitas que ofrecen un conjunto de anomalías que pasan inadvertidas con el microscopio óptico, como es el caso de la imagen de «doble membrana», definitorio de la anemia diseritropoyética congénita de tipo II y que no es más que una cisterna de retículo endoplasmático liso que se dispone paralelamente a la membrana celular externa. Asimismo, la resolución ultramicroscópica permite advertir aspectos incipientes del fenómeno sideroacréstico y diversas anomalías de organelas, frecuentes en los síndromes mielodisplásicos. La constatación de vesículas de rofeocitosis asegura la filiación eritroide de una determinada célula inmadura (fig. 2.10).

TABLA 2.10

Indicaciones del análisis ultraestructural en patología hematológica

Fundamentales
- Estudio de leucemias agudas que carecen de marcadores de diferenciación (precursores eritroblásticos, mieloblásticos y megacarioblásticos muy inmaduros o precursores basófilos)
- Complemento con histoquímica ultraestructural
- Estudio de las anemias diseritropoyéticas congénitas
- Confirmación de la sinartesis eritroblástica (diseritropoyesis autoinmune)
- Confirmación de las histiocitosis X

Aconsejables
- Mejor visualización de rasgos dismielopoyéticos
- Estudio de anomalías eritrocitarias
- Estudio de leucemias agudas (M3 variante, LAM mieloperoxidasa negativas, inclusiones anómalas)
- Filiación de células plasmáticas muy inmaduras
- Mejor identificación de prolongaciones vellosas en células linfoides
- Mejor identificación de las células de Lutzner y de Sézary
- Estudio de las organelas de megacariocitos y plaquetas
- Estudio de las inclusiones en las histiocitosis tesaurismóticas

En la *serie granulopoyética*, el microscopio electrónico resulta especialmente valioso para el estudio de la granulación, que puede haber perdido su normal apetencia tintorial y no ser visible con el microscopio óptico. La subestructura de los gránulos permite diferenciar fácilmente la granulación basófila de la granulación mastocítica, de características morfológicas y citoquímicas similares. Asimismo, pueden advertirse con facilidad diversas anomalías granulares de trastornos congénitos de la granulopoyesis. Del mismo modo, el asincronismo madurativo celular, no siempre muy bien precisado ópticamente, destaca con gran claridad.

Figura 2.10. Eritroblasto inmaduro en el que se advierte una vesícula de rofeocitosis (MET. ×14.500).

El microscopio electrónico puede poner de manifiesto una granulopoyesis incipiente y, en combinación con la citoquímica, logra detectar actividad de mieloperoxidasa en la cisterna perinuclear y en el retículo endoplasmático rugoso y el aparato de Golgi de una célula blástica mieloide agranular muy indiferenciada, lo que representa una importantísima contribución de la ultraestructura a la filiación de las células blásticas y, por tanto, a la catalogación de leucemias mieloides mínimamente diferenciadas o de leucemias agudas megacarioblásticas en caso de aplicar la reacción de la peroxidasa plaquetaria, cuya aparición suele ser más precoz que la de ciertos antígenos detectados con el anticuerpo CD61. La leucemia aguda promielocítica tiene una imagen ultraestructural inconfundible, incluso en la forma variante microgranular, no siempre fácilmente diagnosticable ópticamente. La subestructura de las astillas y de los bastones de Auer también es distinta a la que se observa en otros tipos de leucemia. La presencia, en muchos casos, de una estructura fibrilar en el interior del retículo endoplasmático rugoso dilatado constituye una imagen sumamente característica de la leucemia aguda promielocítica. La contribución de la ultraestructura en las alteraciones del sistema mononuclear fagocítico es notable. El componente monocítico de una leucemia mieloide, con su abundante actividad superficial y profusión de microfilamentos y organelas, se evidencia con facilidad. Hay que tener en cuenta la fácil identificación de las células de tesaurismosis y, sobre todo, la identificación de los cuerpos de Bierbek, auténtico marcador de todas las formas de histiocitosis X, que tampoco es visible con el microscopio óptico.

En los *síndromes linfoproliferativos*, el estudio ultraestructural permite diferenciar fácilmente el urópodo propio de un linfocito T de las prolongaciones vellosas de un tricoleucocito o las de un linfocito velloso de ciertos linfomas B esplénicos. En el citoplasma de algunas células linfoides pueden observarse inclusiones habitualmente no constatadas con el microscopio óptico: complejo ribosómico lamelar, estructuras tubulorreticulares del sida y de ciertas colagenosis, cuerpos multivesiculares, estructuras tubulares paralelas de los linfocitos grandes granulares e inclusiones de naturaleza inmunoglobulínica, entre otras. Ciertos detalles morfológicos, como el aspecto cerebroide del núcleo de las células de Sézary, la profunda incisuración nuclear con los bolsillos nucleares del centrocito o la polilobulación del linfocito de la leucemia-linfoma T del adulto, son especialmente llamativos al electromicroscopio. Asimismo, en células cultivadas

de leucemia-linfoma T del adulto pueden observarse partículas retrovirales tipo C del virus *HTLV-1*.

La gran cuantía de retículo endoplasmático rugoso permite fácil e inequívocamente la identificación de la célula plasmática, así como reconocer sus atributos de malignidad (extensos haces de microfilamentos, inclusiones intranucleares, inmadurez nuclear).

La *serie trombopoyética* ofrece las mayores dificultades con el estudio ultraestructural, de forma que muchas veces se precisa un enriquecimiento de la población megacariocítica. En ciertas trombocitopatías congénitas o adquiridas, el estudio ultraestructural puede ser definitivo al permitir la visualización de anomalías cualitativas o cuantitativas en los gránulos alfa o en los cuerpos densos no individualizados ópticamente. Así, por ejemplo, la falta de cuerpos densos en las plaquetas del síndrome de Hermansky-Pudlak sólo es constatable mediante el microscopio electrónico. La identificación de micromegacariocitos o megacarioblastos muy inmaduros puede resultar incierta, y se presta a confusión con células blásticas de otra estirpe. En estos casos, la detección de la actividad de peroxidasa plaquetaria en la cisterna perinuclear y el retículo endoplasmático rugoso, respetando el aparato de Golgi y los gránulos alfa, permite la filiación certera de estas células y, en consecuencia, facilita el diagnóstico de la leucemia aguda megacarioblástica o variedad M7 del FAB, y valora adecuadamente el componente micromegacariocítico en los síndromes mieloproliferativos crónicos y en los mielodisplásicos. Especial mención merece la aportación de la microscopia electrónica en el campo de la filiación de ciertos tumores, al poder hallar estructuras específicas, como gránulos neurosecretores, facilitando el establecimiento del diagnóstico diferencial con diversos tipos de células linfomatosas.

La aplicación de anticuerpos monoclonales marcados con oro coloidal u otras sustancias electrodensas, y dirigidos contra distintos determinantes antigénicos, posibilita el estudio fenotípico, a la vez que reconoce las peculiaridades estructurales de la célula concreta. Su interés resulta obvio en campos concretos, como los síndromes linfoproliferativos crónicos o la tipificación de leucemias híbridas, entre otras aplicaciones.

La localización subcelular de ciertas enzimas (mieloperoxidasa, peroxidasa plaquetaria, fosfatasa ácida, etc.) tiene gran interés en el estudio de las leucemias agudas y síndromes linfoproliferativos crónicos (figs. 2.11 y 2.12).

Estos pocos ejemplos sirven para demostrar cómo las diversas metodologías auxiliares hasta aquí comentadas pueden combinarse entre sí, potenciando de este modo las posibilidades diagnósticas.

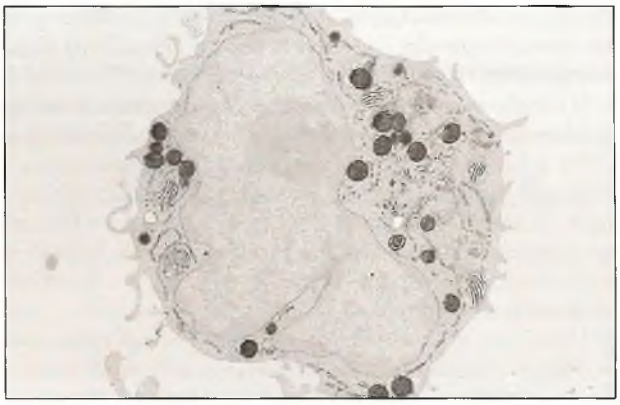


Figura 2.11. Célula mieloide inmadura con actividad de mieloperoxidasa en los gránulos primarios, cisterna perinuclear y retículo endoplasmático rugoso (MET, ×9.100).

Figura 2.12. Blasto con actividad de peroxidasa plaquetaria. Adviértase la negatividad de la zona de Golgi (MET, ×11.500).

BIOPSIA DE MÉDULA ÓSEA

La biopsia de médula ósea constituye un procedimiento de gran utilidad diagnóstica, y complementaria del estudio de la médula ósea por aspiración. Fue introducida en la práctica hematológica en la década de 1950, y se ha acreditado como método exploratorio de gran valor diagnóstico en un buen número de hemopatías. Su ejecución es, por regla general, bien tolerada, aunque algo más dolorosa que la punción aspirativa. El aspirado y la biopsia medular son técnicas complementarias. En la tabla 2.11 se reseña la información proporcionada por la biopsia ósea. Las complicaciones son escasas, pero no inexistentes[24,25], y se resumen en la tabla 2.12.

El estudio de la biopsia medular proporciona información útil en cuanto a la celularidad global, células adiposas, trabéculas óseas, estructuras vasculares, topografía alterada de las distintas series hematopoyéticas en comparación con el patrón de normalidad (p. ej., desplazamiento de la granulopoyesis del área paratrabecular y perivascular a posiciones más centrales, o de la megacariopoyesis hacia áreas próximas a las trabéculas óseas en los SMD), así como de la cuantía y, sobre todo, de la distribución de las células blásticas en el parén-

TABLA 2.11

Información proporcionada por la biopsia ósea

- Evaluación de la celularidad global
- Reconocimiento celular de las distintas líneas hematopoyéticas y de su ubicación
- Observación de las trabéculas óseas, células adiposas, estructuras vasculares, características de la estroma, fibras de reticulita y colágenas
- Reconocimiento de patrones histopatológicos en síndromes mieloproliferativos y linfoproliferativos
- Detección de lesiones focales (granulomas, linfomas, metástasis, etc.)
- Posibilidad de aplicar técnicas inmunohistoquímicas y de estudios moleculares

TABLA 2.12

Complicaciones de la biopsia ósea

- Hemorragias (sobre todo, hematomas)
- Infección local
- Osteomielitis
- Fractura ósea
- Lesión de filetes nerviosos

quima medular. La evaluación de adipocitos, fibroblastos, macrófagos, células endoteliales y estructuras vasculares, con cuantificación por área de tejido medular, es muy útil; asimismo, el estudio de los distintos componentes de la matriz extracelular ayuda al mejor conocimiento de los SMD, de los SMPC y de diversas condiciones patológicas hipoplásicas (aplasia, transformación gelatinosa, necrosis medular). La observación de las trabéculas óseas y de las estructuras vasculares permite sospechar el diagnóstico de algunas enfermedades del hueso y del sistema vascular (arterioesclerosis, vasculitis, etc.). Existen algunas situaciones en las que el estudio histológico de la médula ósea pasa de ser recomendable a constituirse en imprescindible, y los SMD hipoplásicos, los SMD hiperfibróticos, la aplasia medular y la metaplasia mieloide agnogénica se cuentan entre las más representativas. La fibrosis medular reticulínica o colágena sólo es observable mediante biopsia, y en esta circunstancia el aspirado medular suele ser infructuoso (*dry tap*). Asimismo, la biopsia medular es fundamental en el estadiaje de la leucemia linfática crónica y en el estudio de diferentes linfomas, especialmente si se conjuga con marcadores inmunohistoquímicos. Algunas estructuras, como nódulos linfoides o granulomas, en muchas ocasiones no son detectables en un examen del frotis medular obtenido por aspiración. Al disponer de una mayor cantidad de material medular con una biopsia que con un aspirado, es evidente que el hallazgo de una metastatización neoplásica sea más probable en una biopsia medular que en un simple aspirado. Por el contrario, algunos procesos patológicos, como las leucemias agudas, no se benefician de esta técnica; la punción aspirativa resulta más informativa en cuanto al reconocimiento celular detallado, a la tipificación de las células blásticas, al estudio del hierro medular y a la observación de células tesaurismóticas, y al enfermo se le somete a un menor traumatismo. La posibilidad técnica de aplicar reacciones inmunohistoquímicas y de biología molecular a partir del material bióptico, así como la posibilidad de catapultar células aisladas o territorios infiltrados sobre los que se pueden realizar estudios genéticos expande espectacularmente el rendimiento diagnóstico de la biopsia medular.

BIBLIOGRAFÍA

1. Woessner S, Lafuente R, Florensa L. Contribución de la citoquímica al diagnóstico hematológico. En: Woessner S, Florensa L (eds.). La citología óptica en el diagnóstico hematológico. Barcelona: FEHH, 2000.
2. Gale RP, Ben Bassat I. Hybrid acute leukaemia. Br J Haematol 1987; 65:261-264.
3. Peffault de Latour R, Legrand O, Moreau D, Perrot JY, Blanc CM, Chaoui D et al. Comparison of flow cytometry and enzyme cytochemistry for the detection of myeloperoxydase in acute myeloid leukaemia: interest of a new positivity threshold. Br J Haematol 2003; 122:211-216.
4. Cazzola M, Cremonesi L, Papaioannou M, Soriani N, Kioumi A, Charalambidou A et al. Genetic hyperferritinaemia and reticuloendothelial iron overload associated with a three base pair deletion in the coding region of the ferroportin gen (SLC11A3). Br J Haematol 2002; 119:539-546.
5. Orfao A, González de Buitrago. La citometría de flujo en el laboratorio clínico. En: Monografías del Comité de Publicaciones de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, 1995.
6. Kerin DF, McCoy JP, Carey JL. Flow citometry in clinical diagnosis. Chicago: ASCP Press, 2001.
7. Basso G, Buldini B, De Zen L, Orfao A. New methodologic approaches for immunophenotyping acute leukemias. Haematologica 2001; 86:675-692. Revisión.
8. Sanchez ML, Almeida J, Vidriales B et al. Incidence of phenotypic aberrations in a series of 467 patients with B chronic lymphoproliferative disorders: basis for the design of specific four-color stainings to be used for minimal residual disease investigation. Leukemia 2002; 16:1460-1469.
9. Gratama JW, Sutherland DR, Keeney M. Flow cytometric enumeration and immunophenotyping of hematopoietic stem and progenitor cells. Semin Hematol 2001; 38:139-147.
10. Falini B, Flenghi L, Fagioli M et al. Immunocytochemical diagnosis of acute promyelocytic leukemia (M3) with the monoclonal antibody PG-M3 (anti-PML). Blood 1997; 90:4046-4053.
11. Till JE, Mc Culloch EA. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow. Radiat Res 1961; 14:213-220.
12. Fauser AA, Messner HA. Granuloerythropoietic colonies in human bone marrow peripheral blood and cord blood. Blood 1978; 52:1243-1247.
13. Florensa L. Aplicaciones de las técnicas de cultivo *in vitro* al diagnóstico hematológico. En: Woessner S (ed.). Técnicas en citología hematológica. Barcelona: Medici, 1990.
14. Testa NG, Molineux G. Haemopoiesis. A practical approach. Testa NG, Molineux G. Oxford, IRL Press Oxford: University Press, 1993.
15. Petzer AL, Hogge DE, Landsdorp PM, Reid DS, Eaves CJ. Self-renewal of primitive human hematopoietic cells (long-term-culture-initiating cells) in vitro and their expansion in defined medium. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93:1470-1474.
16. Florensa L, Woessner S, Lafuente R, Buxó J, Almarcha J, Marill MR, Sans-Sabrafen J. *In vitro* granulopoiesis in myelodysplastic syndromes (MDS) according to the FAB classification. En: Schmalzl F, Mufti GJ (eds.). Myelodisplastic Syndromes. Berlín: Springer, 1992; 222-232.
17. Greenberg P. Biologic and clinical implications of marrow culture studies in the myelodysplastic syndromes. Semin Hematol 1996; 33:163-175.
18. Florensa L, Besses C, Woessner S et al. Endogenous megakaryocyte and erythroid colony formation from blood in essential thrombocythaemia. Leukemia 1995; 9:271-273.
19. Florensa L, Besses C, Zamora L. Endogenous erythroid and megakaryocytic circulating progenitors, HUMARA clonality assay and PRV-1 expression are useful tools for diagnosis of polycythemia vera and essential thrombocythemia. Blood 2004; 103:2427-2428.
20. Dobo I, Donnard M, Girodon F, Mossuz P, Boiret N, Boukhari R. Standardization and comparison of endogenous erythroid colony assays performed with bone marrow or blood progenitors for the diagnosis of polycythemia vera. Hematol J 2004; 5:161.
21. Dobo I, Boiret N, Lippert E et al. A standardized endogenous megakaryocytic erythroid colony assay for the diagnosis of essential thrombocythemia. Haematologica 2004; 89:1207-1212.
22. Kralovics R, Prchal J. Haematopoietic progenitors and signal transduction in polycythaemia vera and primary thrombocythaemia. En: Green AR, Pearson TC (eds.). Myeloproliferative disorders. Ballière's Clin Haematol 1998; 11:803-818.
23. Rozman C, Woessner S, Feliu E, Lafuente R, Berga LI. Ultraestructura celular en hematología (2.ª ed.). Barcelona: Salvat, 1990.
24. Foucar K. Bone marrow pathology (2.ª ed.). ASCPChicago: Press, 2001.
25. Bain B. Bone marrow biopsy morbidity and mortality. Br J Haematol 2003; 121:949-951.

CAPÍTULO 3

Diagnóstico biológico de las hemopatías: citogenética y biología molecular

B. Espinet, B. Bellosillo y F. Solé

ÍNDICE

La citogenética convencional y su importancia en el estudio de las neoplasias hematológicas
- Nomenclatura citogenética
- Importancia de los estudios citogenéticos en neoplasias hematológicas
- Valor pronóstico de los hallazgos citogenéticos
- Descripción de las alteraciones citogenéticas más características de los distintos tipos de neoplasias hematológicas
- Conclusión

Técnicas de hibridación *in situ*. Fundamento y aplicaciones en neoplasias hematológicas
- Introducción
- Hibridación *in situ* «convencional»
- Nuevas técnicas de FISH
- Combinación de las técnicas de hibridación *in situ* con técnicas de identificación celular

Técnicas de biología molecular
- Introducción
- Estudios de clonalidad
- Estudios de translocaciones
- Detección de enfermedad mínima residual
- Microarrays

Conclusiones

Bibliografía

LA CITOGENÉTICA CONVENCIONAL Y SU IMPORTANCIA EN EL ESTUDIO DE LAS NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

Nomenclatura citogenética

Introducción

El estudio de las características de los cromosomas es el objetivo de la citogenética humana. Durante la división celular o mitosis, la cromatina (DNA + proteínas) se compacta hasta formar elementos independientes llamados *cromosomas*. Éstos llegan al grado máximo de compactación durante la metafase por lo que el estudio citogenético se realiza sobre los cromosomas en metafase.

Un cromosoma en metafase consta de:

- *Dos cromátides hermanas*, cada una de las cuales contiene un dúplex de DNA.
- *Un centrómero*, también llamado constricción primaria, que divide el cromosoma en dos brazos, el brazo corto o «p» y el brazo largo o «q». Los centrómeros son necesarios para la migración de las cromátides hermanas hacia cada polo opuesto durante la división celular (fig. 3.1).

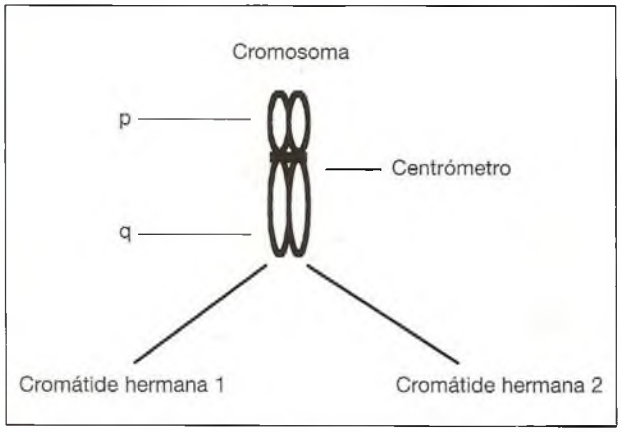


Figura 3.1. Estructura de un cromosoma en metafase.

Según la posición que ocupa el centrómero en el cromosoma (fig. 3.2), los cromosomas se clasifican en:
- *Cromosomas metacéntricos*: el centrómero separa dos brazos de igual tamaño.
- *Cromosomas submetacéntricos*: el centrómero separa dos brazos de diferente tamaño, y el brazo «p» siempre es más pequeño que el «q».
- *Cromosomas acrocéntricos*: el centrómero se encuentra en un extremo, y el brazo «p» queda muy corto, a veces casi irreconocible.

- *Dos telómeros*, o extremos del cromosoma. Los telómeros garantizan la independencia e integridad de cada cromosoma.
- *Heterocromatina*, material genético que constituye zonas del cromosoma que durante la interfase se mantienen condensadas. Se diferencia *heterocromatina facultativa*, que contiene genes temporalmente inactivos, y *heterocromatina constitutiva*, que forma parte de los centrómeros y de las regiones polimórficas (variables según los individuos).
- *Eucromatina*, material que constituye el resto del cromosoma no condensado en interfase, donde se localizan los genes.
- *Satélites*, formaciones redondeadas y conectadas a las cromátides por una constricción secundaria. Pueden hallarse en los cromosomas 13, 14, 15, 21 y 22.

El estudio citogenético revela información sobre la constitución genética de una persona, porque cada cromosoma presenta un tamaño y una morfología constantes. La morfología de cada cromosoma puede diferenciarse a partir de los siguientes parámetros: el tamaño, la posición del centrómero y la tinción de bandas. El patrón de bandas obtenido después de una tinción específica permite la identificación precisa de cada cromosoma y de las regiones particulares dentro de los brazos de cada cromosoma.

Existen diferentes tipos de bandas, cada uno de los cuales proporciona un patrón diferente. El más usado es el patrón de bandas G.

El cariotipo

El cariotipo humano está formado por 23 pares de cromosomas: los autosomas, del 1 al 22 en orden decreciente de longitud, y los cromosomas sexuales, llamados X e Y. El conjunto de cromosomas se clasifica en siete grupos en función de su tamaño y de la posición que ocupa el centrómero (fig. 3.2):

GRUPO A: cromosomas 1 y 3 (metacéntricos) y 2 (submetacéntrico)
GRUPO B: cromosomas 4 y 5 (submetacéntricos, más pequeños que el 2)
GRUPO C: cromosomas 6-12 y X (submetacéntricos, de tamaño medio)
GRUPO D: cromosomas 13-15 (acrocéntricos)
GRUPO E: cromosomas 16-18 (metacéntricos (16) y submetacéntricos pequeños (17-18)
GRUPO F: cromosomas 19-20 (metacéntricos muy pequeños)
GRUPO G: cromosomas 21, 22 e Y (acrocéntricos muy pequeños)

La nomenclatura utilizada para describir un cariotipo normal o patológico se ha estandarizado en una nomenclatura aceptada internacionalmente, ISCN (International System for Human Cytogenetics Nomenclature)[1].

Fórmula cromosómica

Para escribir la fórmula cromosómica de un determinado cariotipo se realizan los siguientes pasos:

1. Indicar el número de cromosomas, seguido de una coma.
2. Indicar los cromosomas sexuales (XX en la mujer y XY en el hombre), seguidos de una coma.
3. Indicar los cromosomas implicados en alteraciones, por orden ascendente. En el caso de estar implicado un cromosoma sexual, éste se indica primero. Si un mismo cromosoma está implicado en alteraciones numéricas y estructurales, primero se indica la alteración numérica. Si un mismo cromosoma está implicado en diferentes alteraciones estructurales, se indica primero la altera-

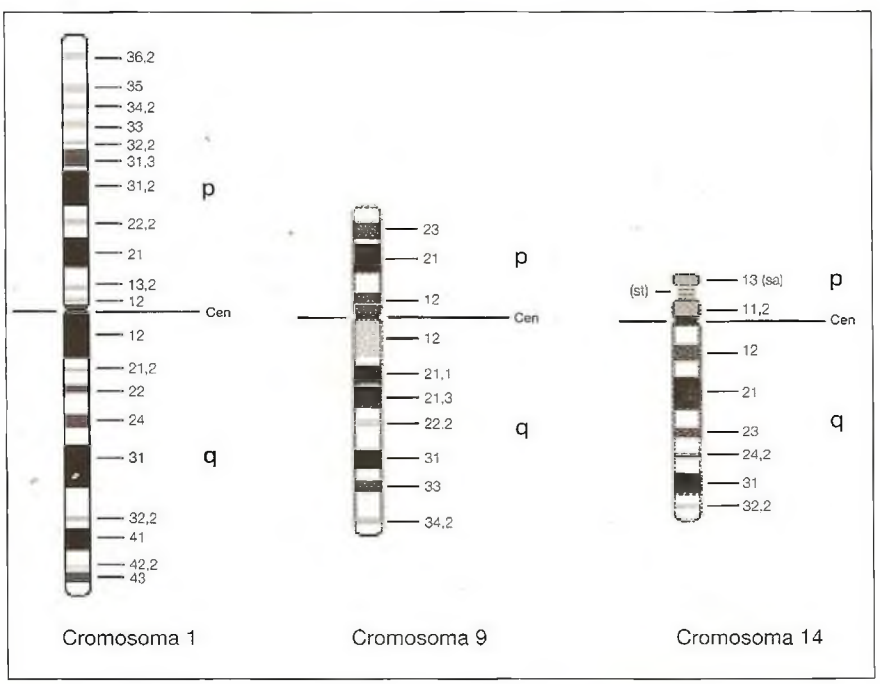


Figura 3.2. Ejemplo de cromosomas metacéntrico (cromosoma 1), submetacéntrico (cromosoma 9) y acrocéntrico (cromosoma 14).

ción cuya primera letra de la abreviatura está alfabéticamente primero. Cada alteración se separa de la siguiente por una coma.

4. Finalmente, indicar entre corchetes el número de metafases analizadas.
5. Si existen dos clones, se separan por una barra espaciadora y se indica el número de metafases analizadas en cada caso.

Ejemplos:

46,XX [20]
46,XY [15]
47,XY, +12 [15]/46,XY [5]
47,XX, +8, t(8;14) [20]
46,XY,del(8)(p11), t(8;14)(q24;q32)[16]/46,XY [4]

Alteraciones constitucionales

Si un individuo presenta una alteración constitucional, es decir, que se halla presente en toda su dotación cromosómica, ésta debe indicarse con la letra «c».

Ejemplo:

48,XX,+8,+21c: el individuo presenta la alteración constitucional +21, y el clon presenta la ganancia del cromosoma 8.

Alteraciones en las que están implicados dos o más cromosomas

En primer lugar se indica el cromosoma de número más bajo o, en caso de estar implicado un cromosoma sexual, éste se indica primero y posteriormente el segundo cromosoma, separados por punto y coma y entre paréntesis. Posteriormente, se indican los puntos de rotura de cada uno de los cromosomas, entre paréntesis y también separados por punto y coma. En el caso de *translocaciones complejas*, con más de dos cromosomas implicados, primero se indica el cromosoma de número más bajo o el cromosoma sexual. El cromosoma que se indica a continuación es el que recibe un segmento del primer cromosoma, y al final se indica el cromosoma que da el material al primer cromosoma.

Ejemplos:

t(1;2)(p11;q21)
t(X;1)(q27;q22)
t(2;9;22)(p23q12;q34;q11)

Cromosoma derivativo: cuando no existe un intercambio recíproco de material

Ejemplo:

46,XY,der(14)t(11;14)(q13;q32): se observan dos cromosomas 11 normales, un cromosoma 14 normal, y un cromosoma 14 con material adicional procedente del cromosoma 11.

Inversiones

Se indican los puntos de rotura implicados, pero sin separar por punto y coma. Primero se indican los puntos de rotura del brazo corto, en caso de estar implicados los dos brazos del cromosoma.

Ejemplo:

46,XY,inv(16)(p13q22)

add

Se indica esta abreviatura cuando el material adicional no es conocido.

Ejemplo:

46,XY,add(14)(q32): todos los cromosomas son normales, excepto un cromosoma 14 que presenta material adicional que no podemos distinguir de qué cromosoma proviene.

Clon

Al final de la fórmula debe indicarse el número de metafases analizadas con un paréntesis cuadrado [ ], y el número de metafases que corresponden a cada clon. En el caso de existir una evolución clonal, se indican los clones por orden de complejidad, separados por una barra (/). En el caso de existir clones no relacionados, se indican de acuerdo con el tamaño de los clones, el de mayor tamaño primero, y en caso de existir un clon normal éste se indica el último.

Ejemplo:

46,XX,t(8;21)(q22;q22) [3]/45,X,-X,t(8;21)(q22;q22) [8]
46,XX,inv(2)(p11q12) [10]/45,XX,-7 [7]/46,XX [15]

En el caso de existir cromosomas *en anillo* (*r* de *ring*) y *cromosomas marcadores* (*mar*) éstos se indican al final de la fórmula: primero los cromosomas en anillo, seguidos de los cromosomas marcadores. En los cromosomas en anillo, si se puede identificar el cromosoma, éste se indica entre paréntesis.

Ejemplo:

48,XX,+r(7),+mar

En la tabla 3.1 se indican algunas de las abreviaturas más utilizadas en la descripción de un resultado citogenético, con el fin de facilitar la comprensión de algunas fórmulas cromosómicas.

Importancia de los estudios citogenéticos en neoplasias hematológicas

En los últimos años, los análisis citogenéticos han ido adquiriendo mayor importancia tanto en el estudio general de las neoplasias como en el más concreto de las hemopatías malignas. Los recientes avances registrados en este campo, entre los que destaca la calidad de las bandas cromosómicas, han permitido identificar subgrupos clínicos asociados con cambios cromosómicos específicos. Todo ello culminó con el establecimiento de una nueva clasificación, denominada MIC, que responde a las iniciales de los tres criterios que valora: morfológicos, inmunológicos y citogenéticos[2-4]. En esta clasificación se consideran, además de las leucemias agudas linfoides y mieloides, las originadas a la vez en dos o más líneas celulares.

Es importante subrayar que la interpretación de los resultados citogenéticos debe realizarse teniendo en cuenta tanto la historia clínica del paciente como los hallazgos de laboratorio. Por ello, es necesaria una estrecha colaboración entre los citogenetistas y los hematooncólogos, colaboración que permitirá interpretar el significado y el valor del cambio cromosómico hallado en un paciente determinado.

Asimismo es importante tener en cuenta el tipo de material que debe utilizarse para la realización de un estudio citogenético, que necesariamente corresponderá a las células implicadas en la enfermedad. Así, en el caso de las leucemias, la valoración debe realizarse en la médula ósea. En los linfomas, hay que analizar los ganglios linfáticos o los tejidos también implicados; en la leucemia linfática crónica y en algunas otras enfermedades, puede efectuarse en sangre periférica al hallarse en ella una gran proporción de células leucémicas. No obstante, en general, y a pesar de la invasión periférica, tanto para la leucemia mieloide crónica como para los síndromes mielodisplásicos y las leucemias agudas se requiere el estudio de médula ósea para obtener la debida información citogenética. En aquellos casos en los que debe descartarse que la

TABLA 3.1

Abreviaturas más utilizadas en los estudios citogenéticos

add	material adicional de origen desconocido
ace	fragmento acéntrico
c	constitucional
cen	centrómero
chr	cromosoma
del	deleción
der	derivativo
dic	dicéntrico
dir	directo
dmin	doble diminutos
dup	duplicación
fra	lugar frágil
g	gap
h	heterocromatina
hsr	región de tinción homogénea
ider	isoderivativo
idic	isodicéntrico
ins	inserción
inv	inversión
mar	cromosoma marcador
min	fragmento
mos	mosaico
p	brazo corto del cromosoma
q	brazo largo del cromosoma
r	cromosoma en anillo
rcp	recíproca
s	satélite
sce	intercambio de cromátides hermanas
t	translocación
tan	tándem
tas	asociación de telómeros
ter	terminal
tr	trirradial
–	pérdida de un cromosoma (monosomía) o de parte de un cromosoma (del)
+	ganancia de un cromosoma (trisomía) o de parte de un cromosoma
–7	monosomía del cromosoma 7
7q–/del(7q)	deleción de parte del brazo largo (q) del cromosoma 7
+8	trisomía del cromosoma 8
14q+	adición de material en el brazo largo (q) del cromosoma 14
add	material adicional de origen desconocido
t(9;22)	translocación que implica a los cromosomas 9 y 22

alteración cromosómica hallada en médula ósea sea constitucional, se requerirá asimismo un estudio de sangre periférica estimulada con fitohemaglutinina (PHA).

Los resultados citogenéticos son importantes para la precisa caracterización y diagnóstico de las neoplasias hematológicas, y como recoge la reciente clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS, *WHO*)[5], existe una serie de leucemias que se clasifican según la alteración citogenética que presentan. Entre ellas cabe citar las que forman el grupo de leucemias agudas con alteraciones citogenéticas recurrentes, como la leucemia aguda mieloide (LAM) con t(8;21)(q22;q22) (AML1/ETO), la LAM con inv(16) o t(16;16)(p13;q22) (CBFβ/-MYH11), la LAM con t(15;17) (q22;q12) (PML/RARα) y variantes, y la LAM con alteraciones de 11q23 (MLL). A su vez, las alteraciones citogenéticas en las neoplasias hematológicas también aportan información de valor pronóstico. Así por ejemplo, existen alteraciones que implican un pronóstico favorable, como la t(8;21)(q22;q22) en la LAM M2 o la inv(16)(p13q22) en la LAM M4 con eosinofilia medular (M4Eo), mientras que la monosomía del cromosoma 7 (–7) o la detección de cariotipos complejos (con más de tres alteraciones cromosómicas distintas) se relacionan con un pronóstico desfavorable. En estos casos concretos y en otros varios son los cambios cromosómicos los que por sí solos tienen valor pronóstico.

Valor pronóstico de los hallazgos citogenéticos

A continuación, se detallan los cambios cromosómicos que tienen un valor pronóstico, por orden de importancia:

- *Cambio cromosómico primario*: se acepta que es el que está relacionado con el proceso de transformación maligna y se halla estrechamente asociado con mecanismos moleculares, los cuales serían los responsables de la neoplasia.
- *Cambio cromosómico secundario*: cuando se producen cambios cromosómicos secundarios, la enfermedad sigue un curso más agresivo, se hace más resistente a la terapia y es más difícil obtener una remisión completa o de larga duración. Cuando existen alteraciones secundarias el valor pronóstico parece estar relacionado con el número de anomalías[6]. Por ello, la presencia de muchos cambios cromosómicos (MAKA, *major karyotypic abnormalities*) conlleva peor pronóstico que la presencia de pocos cambios (MIKA, *minor karyotypic abnormalities*).
- *Presencia o ausencia de células citogenéticamente normales en médula ósea*: los pacientes que sólo presentan células con un cariotipo anormal (AA) tienen un peor pronóstico que los que tienen células normales (AN o NN)[6].
- *Presencia de dobles diminutos* (DMS, *double minutes*) o de regiones de tinción uniforme (HSR, *homogeneously staining regions*): la presencia en las células leucémicas de DMS y de HSR se asocia con un mal pronóstico[7]. Los DMS y las HSR están relacionados con una amplificación génica, y ésta confiere una mayor resistencia a la terapia.
- *Cambios cromosómicos numéricos (sin anomalías estructurales)*: algunas leucemias (particularmente, la leucemia linfoblástica aguda) están relacionadas con una alteración cromosómica numérica. Cuando estas anomalías representan el único cambio cromosómico, probablemente tienen el mismo valor pronóstico que los cambios primarios, tales como translocaciones, deleciones, inserciones o inversiones.

Descripción de las alteraciones citogenéticas más características de los distintos tipos de neoplasias hematológicas

En este apartado se establecerá una relación resumida de las principales alteraciones citogenéticas observadas en distintas neoplasias hematológicas (tabla 3.2).

Leucemia mieloide crónica

La leucemia mieloide crónica (LMC) es el ejemplo más clásico del valor diagnóstico y pronóstico de la citogenética en las

TABLA 3.2

Alteraciones cromosómicas más frecuentes en las hemopatías malignas

Síndromes mielodisplásicos	5q–, 7q–, trisomía 8
Leucemia mieloide crónica	t(9;22)(q34;q11)
Leucemia aguda no linfoblástica	
M1	t(9;22)(q34;q11), inv(3)(q21q26)
M2	t(8;21)(q2;q22), t(6;9)(p22;q34)
M3	t(15;17)(q22;q21)
M4	inv(16)(p13;q22)
M5	t(9;11)(p22;q23), t(8;16)(p11;p13)
M6	trisomía 8, 5q–, 7q–, cariotipo complejo
M7	trisomía 21
Leucemia aguda linfoblástica	
L1	t(9;22)(q34;q11), t(1;19)(q21-q13;p13) t(12;21)(p13;q22)
L2	reord. MLL, t(4;11)(q21;q23), 6q–
L3	t(8;14)(q24;q32), t(8;22)(q24;q11 o 12) t(2;8)(p12;q24)
Leucemia linfática crónica	
B	del(13)(q14), del(11)(q22-q23), trisomía 12
T	inv(14)(q11;q32), i(8q)

hemopatías. La presencia del cromosoma Philadelphia (Ph'), generalmente resultante de la translocación entre el cromosoma 9 y el 22, t(9;22)(q34;q11), es la principal alteración citogenética observada en esta entidad (en alrededor del 95% de los pacientes), hasta el punto de que la demostración de su existencia constituye una exigencia en su diagnóstico (fig. 3.3; tabla 3.3).

Los recientes avances en genética molecular han demostrado que algunos casos que clínicamente parecían LMC, pero que mediante el estudio citogenético no revelaban el cromosoma Ph', en realidad presentaban la región bcr del cromosoma 22 reorganizada, es decir, el cambio genético es tan pequeño que no es perceptible con estudios citogenéticos y sí mediante los moleculares. Por ello, en los casos en los que se sospecha que se trata de una LMC, pero el estudio citogenético no revela la presencia del cromosoma Ph', deben realizarse técnicas de genética molecular (hibridación *in situ* o PCR) y comprobar si existe el reordenamiento de la región bcr del cromosoma 22.

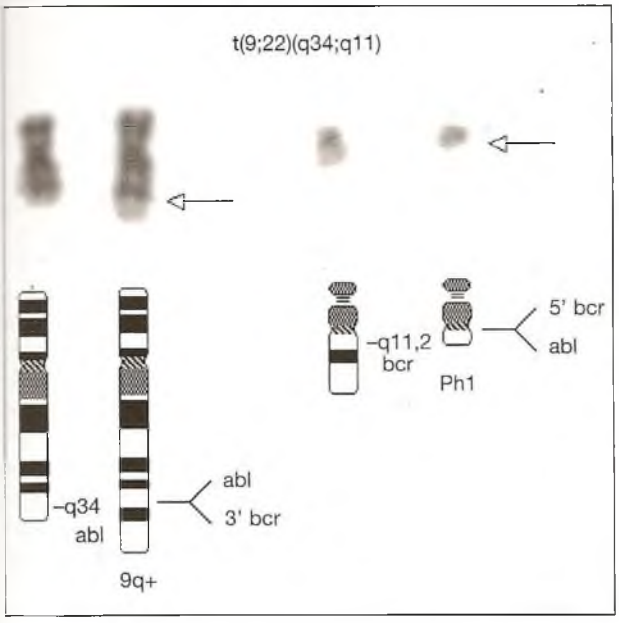


Figura 3.3. Cariotipo parcial e ideogramas de la translocación t(9;22)(q34.1;q11.2) característica de la LMC.

Mediante estudios moleculares se ha demostrado que el protooncogén abl localizado en el cromosoma 9 en la banda 9q34 se transloca al 22 en la banda 22q11, siempre en un área llamada bcr (*breakpoint cluster region*), de alrededor de 5 kilobases (kb). La yuxtaposición entre la región bcr y el oncogén c-abl dirige la producción de un RNAm anormal, de alrededor de 8,5 kb (el RNAm normal del protooncogén abl es de 6-7 kb), al igual que la de una proteína anormal también con actividad tirosín cinasa como la proteína normal, de peso molecular 210×10^3 (el peso molecular de la proteína normal es de 150×10^3). Al parecer, la producción de esta proteína anormal es un paso primario para que se inicie la LMC, aunque por el momento se desconoce el mecanismo de acción.

Por otro lado, la detección de otras alteraciones, además del cromosoma Ph', puede darse durante la fase crónica de la enfermedad (10-15% de los casos), pero es más frecuente durante la fase blástica (FB) (80% de los casos). En efecto, cuando se desarrolla la FB, en general, se observan otras alteraciones cromosómicas además del cromosoma Ph', que incluso se presentan sin la manifestación clínica de la misma. Los cambios añadidos guardan una estrecha relación con el tipo de FB que se desarrolla.

Respecto a la LMC Ph' negativa, los estudios moleculares y citogenéticos han demostrado que cursa con alteraciones moleculares hoy día evidenciables con las modernas técnicas de genética molecular, por lo que su evidencia real se ha reducido a un mínimo[8].

Síndromes mielodisplásicos (SMD)

La frecuencia de detección de alteraciones cromosómicas en los SMD varía entre el 30 y el 50%, según las series presentadas. El hecho de que se observen alteraciones cromosómicas aporta la idea de que estos síndromes representan verdaderas neoplasias.

Las alteraciones cromosómicas más frecuentes son la deleción del brazo largo (q) del cromosoma 5 (5q–) o

TABLA 3.3

Alteraciones cromosómicas en la leucemia mieloide crónica

* LMC Ph' + t(9;22)(q34;q11)

Fase blástica (FB):

 # Transformación mieloide (80% de los casos)

Transformación promielocítica:	t(15;17) o i(17q)
Transformación megacarioblástica:	alteraciones en 3q21 o 3q26, extra cromosoma Ph' + 8
Transformación eritroblástica:	hiperdiploidía (> 50 cromosomas) múltiples anomalías cromosómicas
Transformación con marcada basofilia:	i(17q)

 # Transformación linfoide (20% de los casos)
Evolución cromosómica en el 10-50% de los casos
Ph' variante, extra cromosoma Ph', trisomía 8, trisomía 19, pérdida del cromosoma Y, i(17q)

* LMC Ph' – +8
–7
+21
–Y
i(17q)

del(5)(q13q33), monosomía 7 (–7) y trisomía 8 (+8), todas muy frecuentes en las leucemias agudas no linfoblásticas (LANL) (figura 3.4; tabla 3.4). Por otro lado, las alteraciones t(8;21), t(15;17) y la inv(16), típicas de las variedades de LANL llamadas M2, M3 y M4Eo, respectivamente, no se observan en pacientes con SMD, por lo que no es probable que en las mismas exista una fase preleucémica manifestada a través de un SMD.

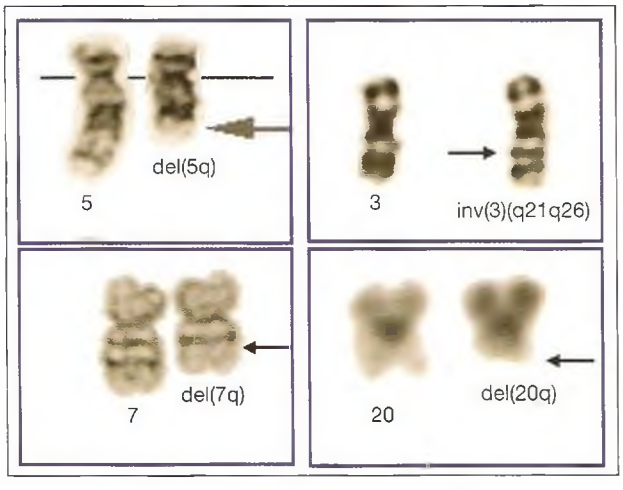


Figura 3.4. Algunas de las alteraciones citogenéticas más características de los SMD.

La alteración citogenética 5q– es remarcable por estar relacionada con una entidad clínica muy concreta, que se caracteriza por incidir en pacientes con anemia refractaria (AR), generalmente mujeres con una media de edad de 65 años, con larga supervivencia, y que, a nivel citológico, cursa con hipolobulación megacariocítica, número normal o elevado de plaquetas y anemia macrocítica sin sideroblastos. Cabe destacar que en la región delecionada del cromosoma 5 se encuentra el

TABLA 3.4

Alteraciones cromosómicas más frecuentes en los síndromes mielodisplásicos

t(1;3)(p36;q21)
t(1;7)(p11;p11)
t(2;11)(p11;q23)
del(9)(q13q22)
del(20)(q11q13)
t(3;17)(q26;q22)
t(11;21)(q22;q21)
i(17)(q10)
21q–
5q– (q31q35)
7q– o –7 (q22)
12p–
+8
1q
+11
+13

oncogén c-FMS (codifica una proteína relacionada o idéntica a la del receptor para el factor de crecimiento de los macrófagos, M-CSF), el factor de crecimiento granulocito-macrófago (GM-CSF 2), interleucina-3, *platelet-derived growth factor receptor* (PDGFR), receptor adrenérgico beta (BAR), factor de crecimiento celular endotelial (ECGF), el gen que codifica un antígeno de membrana de células mieloides (CD14), interleucina-4 e interleucina-5. Estos resultados indican que, en un futuro, será interesante analizar el papel de los citados genes en la patogénesis de estas enfermedades.

Otra alteración muy frecuente, la monosomía 7, tanto en niños como en adultos se caracteriza por presentar durante la fase inicial una médula ósea hipoproliferativa y citopenias

refractarias, con quimiotaxis defectiva de los neutrófilos, infecciones recurrentes, y transformación progresiva hacia un síndrome mieloproliferativo que evoluciona finalmente a LAM.

El resultado citogenético, independientemente del subgrupo, tiene un valor pronóstico. Por ejemplo, los pacientes con una única alteración tienen una media de supervivencia de 12 meses, mientras que los pacientes con monosomía 7 o alteraciones complejas tienen un pronóstico desfavorable (menos de 4 meses)[9-14].

Leucemia aguda mieloide (LAM)

Es en este grupo donde quizá la citogenética ha aportado una mayor información, lo cual ya quedó bien patente con la clasificación MIC[2] y, más tarde, con la reciente clasificación de la OMS[5]. Los estudios citogenéticos han permitido, en efecto, definir entidades dentro de los subgrupos establecidos por el grupo cooperativo FAB (M1-M7)[15,16], con unas características citológicas, inmunológicas o clínicas que muestran, además, un comportamiento pronóstico significativamente diferente. La clasificación de la OMS correspondiente a las LAM distingue un subgrupo de leucemias agudas con alteraciones citogenéticas recurrentes, como la LAM con t(8;21)(q22;q22) (AML1/ETO), la LAM con inv(16) o t(16;16)(p13;q22) (CBFβ/MYH11), la LAM con t(15;17)(q22;q12) (PML/RARα) y variantes, y la LAM con alteraciones de 11q23 (MLL).

Con respecto a los cambios cromosómicos más específicos, hasta hace poco tiempo se había utilizado la clasificación FAB[16] y se establecieron las siguientes asociaciones (tabla 3.5). La translocación t(8;21)(q22;q22) es el cambio más frecuente en la M2. Esta anomalía se asocia con la presencia de mieloblastos grandes en médula ósea, con signos de maduración y con bastones de Auer en el citoplasma. En este grupo, la aparición de cambios secundarios, como la pérdida de un cromosoma sexual (el cromosoma Y en varones y el X en mujeres) condiciona un pronóstico más desfavorable. La M2 con t(8;21) se caracteriza, además, por presentar una buena respuesta a la terapia, largas remisiones y tener una supervivencia relativamente larga (alrededor del 85% consiguen remisiones completas, y la media de supervivencia es superior a 20 meses) (fig. 3.5).

En la M3, la alteración más frecuente es t(15;17)(q22;q21), que se observa en el 90% de los casos. Esta alteración cromosómica, por el momento sólo se ha descrito en la M3 o en la LMC con una FB de tipo promielocítico, confirmándose su especificidad en la leucemia promielocítica aguda (fig. 3.6).

En la M4, la alteración más común es la inversión inv(16)(p13q22) o translocación o deleción que implica al cromosoma 16 en la banda q22. Esta alteración se asocia con la M4, con eosinofilia medular (M4Eo). En general, la detección de este cambio cromosómico en la M4Eo se relaciona con un buen pronóstico, con una buena respuesta a la terapia y una media de supervivencia superior a 20 meses, pero en la recaída es frecuente que se afecte el sistema nervioso central.

En la M5 el porcentaje de individuos con cariotipo anómalo es del 40%. La translocación t(9;11)(p22;q23) se ha encontrado en el 30-40% de los casos, y es también muy frecuente encontrar la trisomía del cromosoma 8 (+8). La implicación de 11q23 es más frecuente en niños que en adultos. No obstante, la translocación t(9;11) no es específica de la M5, ya que se da en una baja frecuencia en M4, y muy excepcionalmente en M2 con componente monocítico.

Una alteración cromosómica frecuente en el grupo de la LAM es la implicación del cromosoma 3 en las bandas 3q21 o 3q26, relacionándose en estos casos con un número de plaquetas superior al normal. Habitualmente, los pacientes que presentan estas anomalías u otras en las que está implicado el cromosoma 3 en estos puntos de rotura, suelen presentar un número normal o elevado de plaquetas, asociado con una marcada presencia de anomalías en la megacariocitopoyesis[17-19].

TABLA 3.5

Alteraciones cromosómicas más frecuentes en las leucemias agudas mieloides

M1	5q– o –5; 7q– o –7; –17	
	Ph'	
	deleción 3p y translocación con el 3 en 3q21 o 3q26	
	+21	
	+8	
M2	t(8;21)(q22;q22)	
	5q– o –5; 7q– o –7	
	del 3p e inv(3)(q21q26)	
	t(6;9)(p22;q34) asociado con basofilia en médula ósea	
	Ph'	
	+8	
M3	t(15;17)(q22;q21)	
	i(17)(q10)	
M4	5q– o –5; 7q– o –7	
	inv(16)(p13q22) o 16q– o t con el 16(q22), asociado con eosinofilia en médula ósea	
	t(6;9)(p22;q34)	
	t(?;11)(?;q23)	
	+8	
	Ph'	
	+4	
M5	t(9;11)(p22;q23)	M5a
	t(?;11)(?;q23)	M5a
	t(8;16)(p11;p13)	asociado con fagocitosis
	+8	
M6	5q– o –5; 7q– o –7	
	–3 y t(3;?)(q21 o q26)	
	dup(1)	
	+8	
M7	inv(q21q26) o del(3)	
	+8	
	+21	

Leucemia aguda linfoblástica (LAL)

En la LAL los estudios citogenéticos se han visto frenados debido a la mala calidad de los cromosomas, los cuales aparecen muy condensados y con aspecto deshilachado. Las alteraciones más frecuentes en cada subgrupo se muestran en la tabla 3.6. La translocación t(1;19), muy frecuente en la LAL, se relaciona con la presencia de blastos de inmunofenotipo pre-B. Es frecuente en niños y en adultos que suelen presentar un número de leucocitos de 20-30 × 10^9/L. Otra alteración importante es la translocacion t(4;11) que se asocia a un mal pronóstico. Los pacientes suelen presentar un número de leucocitos superior a 100 × 10^9/L, y los blastos suelen ser de fenotipo nulo. Esta translocacion también se ha observado en casos con células blásticas mieloides y en la leucemia mieloblástica aguda. Se produce con mayor frecuencia en mujeres. Su incidencia en niños es del 1,9%, y es muy frecuente en pacientes con menos

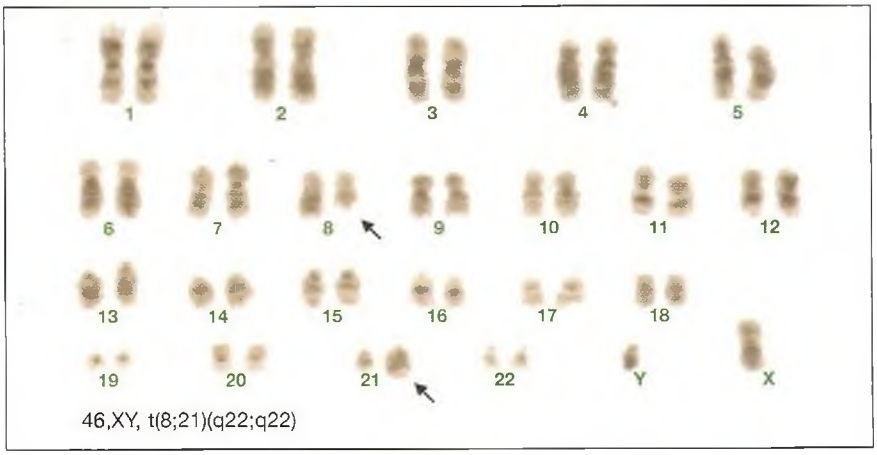


Figura 3.5. Cariotipo de un paciente de sexo masculino afectado de una LAM-M2 con una translocación t(8;21)(q22;q22).

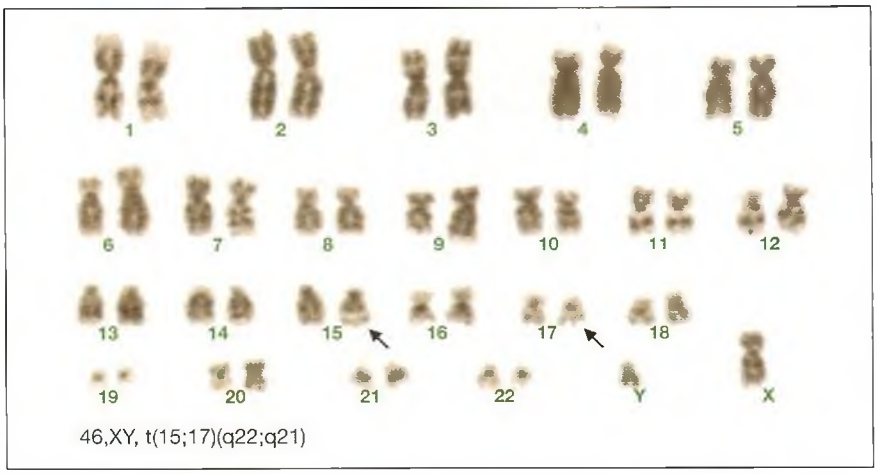


Figura 3.6. Cariotipo de un paciente de sexo masculino afectado de una LAM-M3 con una translocación t(15;17)(q22;q21).

de un año de edad, entre los cuales aparece en el 50% de los casos. La translocacion t(2;8) o t(8;14) o t(8;22) es frecuente en la LAL tipo Burkitt L3 con fenotipo de células B. Es más frecuente en varones que en mujeres, y suele cursar con un número de leucocitos de alrededor de 10×10^9/L. En estas translocaciones, el oncogén c-myc (localizado en el cromosoma 8) se pone bajo control de los genes de las cadenas ligeras y pesadas de las inmunoglobulinas (localizados en los cromosomas 2-Kappa-, 14-JH- y 22-Lambda-) aumentando su expresión.

La relación con el valor pronóstico ha sido muy estudiada, especialmente en la LAL infantil, y en resumen puede decirse lo siguiente:

- Los pacientes con un cariotipo hiperdiploide con más de 50 cromosomas, especialmente si presentan trisomía 4, 10 y 17, tienen una buena respuesta a la terapia, y el 92% sobrevive a los 48 meses del diagnóstico.
- Les siguen los casos con un cariotipo con 46 cromosomas pero con alguna alteración estructural. Entre ellos se hallan casos con buen pronóstico, como los que presentan la t(12;21), los cuales tienen una supervivencia libre de evento a los 48 meses del 89%, los casos de pronóstico intermedio, como los que presentan la t(1;19) y la t(4;11), con valores de supervivencia a los 48 meses del 68,9 y 49,9%, respectivamente, y los pacientes con un pronóstico desfavorable, como los que presentan la t(9;22), entre los cuales sólo el 27,5% de los casos están vivos a los 48 meses (fig. 3.7).

TABLA 3.6

Alteraciones cromosómicas en la leucemia aguda linfoblástica

L1	t(9;22)(q34;q11) (cromosoma Ph')
	cariotipo próximo a haploide
	t(1;19)(q21;p13)
	t(14q32)
	t(4;11)(q21;q23)
	6q–
	t(8;14)(q24;q32)
L2	t(4;11)(q21;q23)
	t(12;21)(p13;q22)
	Ph'
	6q–
	+21
	+8
	i(17q)
	7p–
	11q–
	t(14q32)
L3	t(8;14)(q24;q32)
	t(8;22)(q24;q11 o 12)
	t(2;8)(p12;q24)
	t(1;8;14)(q23;q24;q32) o t(3;8;14)(q14;q24;q32)
	6p–
	dup(1)(q12-q31)

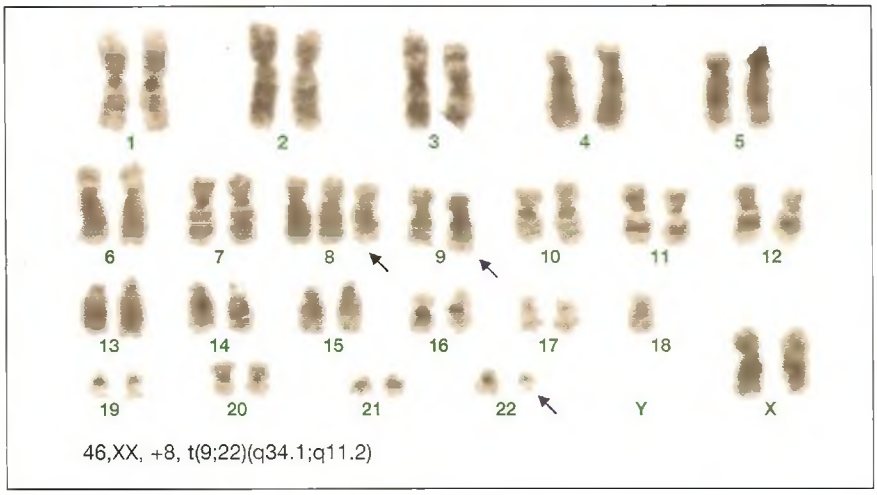


Figura 3.7. Cariotipo de un paciente de sexo femenino afectado de una LAL con una trisomía 8 y una t(9;22)(q34.1;q11.2).

- Los pacientes con un cariotipo hipodiploide, normal o hiperdiploide (entre 47 y 50 cromosomas) tienen una respuesta intermedia al tratamiento[20-22].

Leucemia linfática crónica B (LLC-B)

En la LLC-B el problema principal que existe a nivel citogenético consiste en que los linfocitos B leucémicos responden poco a los mitógenos habitualmente usados hoy día. No obstante, la utilización de distintas sustancias estimulantes de la división (fitohemaglutinina PHA, *Pokeweed Mitogen* PWM, lipopolisacárido de *E. coli* LPS, virus de Epstein-Barr VEB, acetato de tetraforbol éster TPA) de estas células ha permitido observar alteraciones cromosómicas en alrededor del 50% de los casos (tabla 3.7).

La afectación de la región 13q14 (en forma de deleción o translocación) representa la alteración cromosómica más frecuente, detectándose en el 53% de los pacientes con la técnica de HIS interfásica. También se detectan alteraciones en 11q22-q23 (19%) y la trisomía del cromosoma 12 (+12), que representaba la alteración citogenética más característica de la LLC-B con estudios citogenéticos convencionales, pero pasa a representar el 15% de los enfermos si se aplican técnicas de HIS interfásica. Las alteraciones en 6q21-23 y en 17p13 (donde se localiza el gen de la p53) se detectan, aproximadamente, en el 10% de pacientes afectados de LLC-B. Los estudios citogenético-moleculares realizados en la LLC-B han demostrado que la afectación de 14q32 es mucho menos frecuente de lo que se había pensado partiendo de los estudios citogenéticos convencionales. Dicha alteración aparece, aproximadamente, en el 5% de las LLC-B, principalmente en forma de translocación t(2;14)(p13;q32), t(14;14)(q32;q21), t(14;17)(q32;q23), t(14;18)(q32;q21) y t(14;19)(q32;q13) (fig. 3.8).

Respecto al valor pronóstico de las alteraciones cromosómicas en la LLC, en general se observa:

TABLA 3.7

Alteraciones cromosómicas más frecuentes en la leucemia linfática crónica

+12
del(13)(q14)
del(11)(q22q23)
del(6)(q21q23) y del(6)(q25q27)
del(17)(p13)
t(2;14)(p13;q32)
t y del(5)(p13p15)
14q+ o add(14)(q32)
t(11;14)(q13;q32)? (linfoma del manto)
t(14;18)(q32;q21)
t(13;14)(q22;q32)
t(14;17)(q32;q23)
t(14;19)(q32;q13)
del(14)(q22-q24)
i(17)(q10)

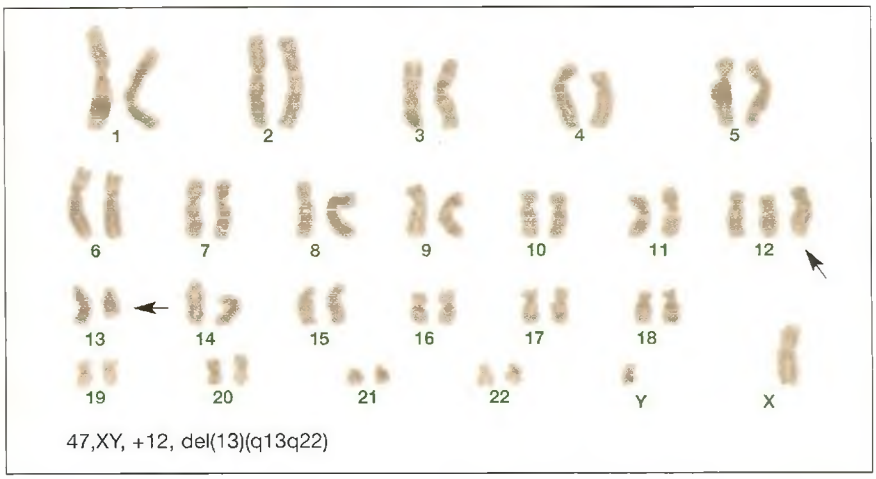


Figura 3.8. Cariotipo de un paciente de sexo masculino afectado de una LLC-B con trisomía 12 y deleción de 13q.

- Los pacientes con un cariotipo normal presentan un mejor pronóstico que los que tienen alteraciones clonales.
- Es importante conocer la relación de metafases normales en relación con las anormales, ya que es un parámetro con valor pronóstico.
- Se establecen grupos pronósticos según la alteración citogenética:
  - del(13)(q14) se asocia a larga supervivencia.
  - La trisomía 12 se asocia a pronóstico intermedio.
  - del(11)(q23) y del(17)(p13) se asocian a mal pronóstico, progresión de la enfermedad y corta supervivencia.
- Los pacientes con un cariotipo complejo (más de tres alteraciones cromosómicas) tienen un pronóstico más desfavorable que el resto.
- En los casos en los que se obtienen pocas metafases, el período de supervivencia es superior al de los pacientes que presentan un número mayor de metafases[23-29].

Linfomas no hodgkinianos

Linfoma folicular

El linfoma folicular (LF) se caracteriza citogenéticamente por la presencia de la translocación t(14;18)(q32;q21) en el 80-90% de los casos (fig. 3.9). Esta translocación se asocia con una disregulación del gen BCL-2 en la mayoría de los casos, como consecuencia de la yuxtaposición de una de las regiones JH de las inmunoglobulinas en 14q32 con una región no codificadora del gen BCL-2 en 18q21. La trisomía parcial de los cromosomas 2, 3, 7, 12, 18 y 21 y deleciones en los cromosomas 6q y 17p se asocian con formas clínicas más agresivas, y estas últimas presentan un factor pronóstico adverso independiente en los análisis multivariantes. La transformación histológica del LF a linfoma difuso de célula grande se asocia con amplificaciones en 1p, 6p, 8q y 12q, así como con la translocación t(1;22)(q22;q11), deleciones homocigotas de 9p21 (genes p16 y p15) y mutaciones de p53 y bcl-2[30-33] (tabla 3.8).

Linfoma de Burkitt

El linfoma de Burkitt (LB) se caracteriza citogenéticamente por la presencia de la translocación t(8;14)(q24;q32) en el 80% de los casos. Otras dos alteraciones variantes, la translocación t(8;22)(q24;q11) y la t(2;8)(p11;q24), se identifican en el 15 y el 5% de los casos, respectivamente. Esta translocación se asocia con una disregulación del gen c-MYC (8q24), como consecuencia de la fusión de este oncogén con

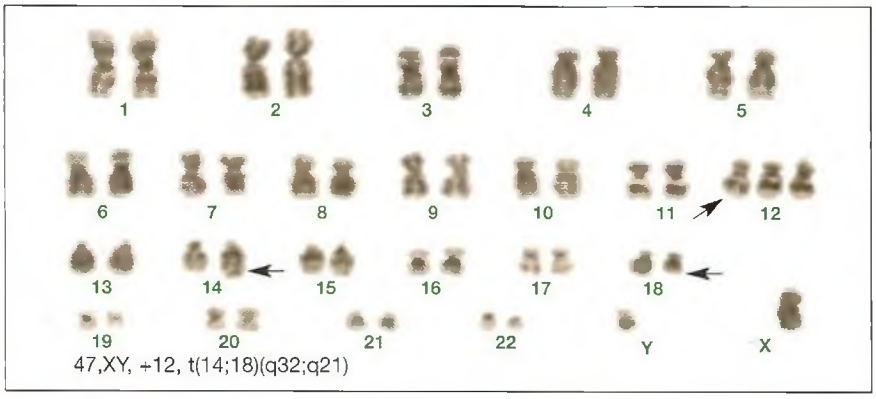


Figura 3.9. Cariotipo de un paciente de sexo masculino afectado de un linfoma folicular con la t(14;18)(q32;q21) BCL-2/IgH característica y una trisomía 12 acompañante.

TABLA 3.8

Alteraciones cromosómicas más frecuentes en los linfomas

Enfermedad	Alteración	Gen
LNH folicular	t(14;18)(q32;q21)	IgH/BCL2
	t(2;18)(p12;q21)	IgK/BCL2
	t(18;22)(q21;q11)	IgL/BCL2
LNH manto	t(11;14)(q13;q32)	IgH/BCL1(CCND1, PRAD1)
LNH Burkitt	t(8;14)(q24;q32)	IgH/c-MYC
	t(2;8)(p12;q24)	IgK/c-MYC
	t(8;22)(q24;q11)	IgL/c-MYC
LNH difuso de células grandes	t(3;14)(q27;q32)	IgH/BCL6
	t(3;V)(q27;V)	Otras translocaciones de BCL6
Linfoma linfoplasmocítico	t(9;14)(p12;q32)	IgH/PAX5
MALT	+3	
	t(11;18)(q21;q21)	API2/MALT1
	t(14;18)(q32;q21)	IgH/MALT1
	t(1;14)(p22;q32)	IgH/BCL10
	t(3;14)(p14.1;q32)	FOXP1-IgH
LEZM	del(7)(q32)	ST7
	+3q	
Linfoma anaplásico de células grandes	t(2;5)(p23;q35)	NPM/ALK
	t(2;V)(p23;V)	Otras translocaciones de ALK

el gen IGH en 14q32, o con los genes de las cadenas ligeras kappa (IGK) en 22q11 o lambda (IGL) en 2p11. El LB suele presentar otras alteraciones citogenéticas secundarias, como la duplicación de 1q, del(6q), y del(17p). La inactivación de p53 por deleción o mutación se detecta en el 30-60% de los LB y se asocia con la progresión tumoral[34-37] (tabla 3.8).

Linfoma del manto

El linfoma del manto (LM) se caracteriza citogenéticamente por la translocación t(11;14)(q13;q32) que se observa en el 70% de los casos mediante citogenética convencional, y en más del 95% de los casos mediante hibridación *in situ* fluorescente (fig. 3.10). Esta translocación es la causante de un aumento de la expresión de la ciclina D1 (> 95% de los casos) como consecuencia de la disregulación del gen bcl-1 por su yuxtaposición con el gen IgH en 14q32. El empleo de técnicas de hibridación *in situ* e hibridación genómica comparada ha permitido detectar la presencia de aberraciones cromosómicas adicionales en la mayoría de los casos, y las más frecuentes de ellas son pérdidas de material genético en 1q, 6q, 8p, 11q y 13q, y ganancias en 3q, 8q, 7p y 18q. En los casos con morfología blastoide también se han observado amplificaciones de los genes: c-MYC en 8q, DMI-I en 10p, CDK4 en 12q y BCL-2 en 18q. Las deleciones de los cromosomas 11q23 y 13q14 en el LM se detectan en un porcentaje similar a la LLC-B y mucho más frecuentemente que en otros SLPC-B. La deleción de 17p13 se observa generalmente en formas blásticas, y se asocia con refractariedad al tratamiento y supervivencia corta. Mediante análisis multivariante, el factor pronóstico adverso más importante en la evaluación de la enfermedad está representado por el grado de complejidad del cariotipo[38-40]. Recientemente, Martínez-Climent et al[41] han observado deleciones en el cromosoma 8p en el 83% de los LM leucemizados, lo cual sugiere la presencia de un gen relacionado con el inicio de la enfermedad. Además, Vizcarra et al[42] han descrito dos formas de LM leucemizado con distinto comportamiento clínico: una de ellas con morfología prolinfocitoide, expresión de CD38, deleción de p53 y amplificación de c-MYC que se comportaría de forma más agresiva, y otra con morfología clásica, CD38 negativo, ausencia de alteraciones en p53 y c-MYC y evolución clínica más indolente (tabla 3.8).

Linfoma de la zona marginal

Los linfomas de la zona marginal constituyen un grupo de neoplasias de células B maduras con características clínicas, biológicas y genéticas propias. Los *linfomas MALT extranodales* presentan alteraciones genéticas en cerca del 60% de los casos, y la translocación t(11;18)(q21;q21) con la formación del gen de fusión API2/MALT1 es la alteración estructural más frecuente (30%)[43]. La expresión de este gen de fusión conduce a un incremento en la inhibición de la apoptosis. Otra alteración menos frecuente es la translocación t(1;14)(p22;q32) con disregulación del gen BCL-10 también implicado en el control de la apoptosis. La presencia concomitante de estas dos translocaciones se detecta en linfomas MALT avanzados[44]. Recientemente, también se ha descrito la t(3;14)(p14;q32), que implica a los genes FOXP1 e IgH. Esta translocación se ha detectado en el 10% de los linfomas MALT extranodales, pero hasta el momento no se ha descrito en los otros tipos de linfomas de la zona marginal[45]. Las alteraciones genéticas más frecuentes del *linfoma de la zona marginal esplénico* son la trisomía 3 y las alteraciones estructurales del cromosoma 7q[46] (fig. 3.11). Las deleciones en 7q31.3 se observan en el 40% de los casos[47]. Recientemente, se ha descrito que la ausencia de mutaciones de los genes IgVH, junto con las deleciones en 7q31, confieren un pronóstico clínico adverso en esta enfermedad[48] (tabla 3.8).

Conclusión

Los resultados citogenéticos son importantes porque no sólo son indispensables para el diagnóstico de una neoplasia hematológica sino también por su información para el valor pronóstico.

Aún existen muchas alteraciones cromosómicas que no se correlacionan con unas características clínicas determinadas. Por ello, es indispensable una completa historia clínica, con el fin de determinar la correlación entre el cambio cromosómico y el curso de la enfermedad.

En los últimos años, la introducción de las técnicas de hibridación *in situ* ha representado un complemento importante para las técnicas citogenéticas convencionales. En los casos en los que el índice mitótico de la células leucémicas es bajo (p. ej., en la LLC), y se quiere descartar una alteración numérica o estructural, mediante una sonda centromérica del cromosoma que se quiere estudiar o una sonda de *locus* específico de la región afectada, se puede determinar, sin tener que realizar un cultivo celular y sin necesidad de tener células en metafase, las copias que existen de un determinado cromosoma o región cromosómica mediante el recuento de las señales

Figura 3.10. Cariotipo de un paciente de sexo femenino afectad0 de un linfoma del manto con t(11;14)(q13;q32) BCL-1/IgH.

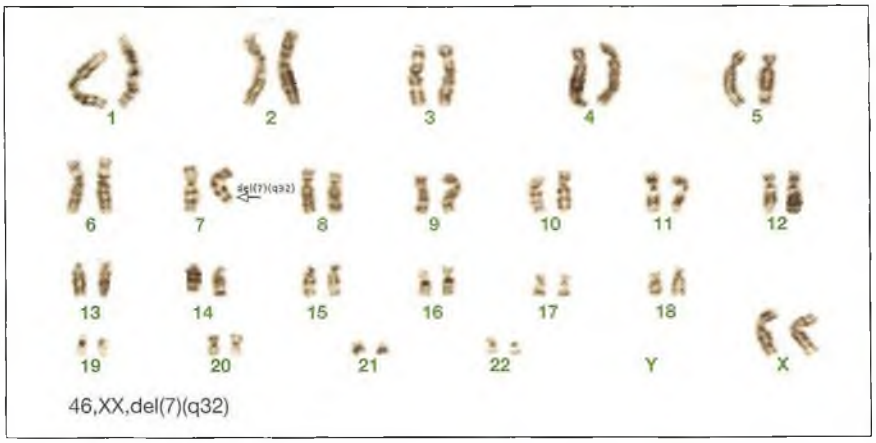


Figura 3.11. Cariotipo de un paciente de sexo femenino afectado de un linfoma de la zona marginal esplénico con deleción de la banda 7q32.

de hibridación en los núcleos. En otros casos, si la calidad de los cromosomas y de las bandas no es satisfactoria, pueden aplicarse sondas de secuencia única o un conjunto de sondas para el «pintado» de un cromosoma en concreto, y determinar la existencia de una alteración cromosómica que, mediante la citogenética convencional, no se puede asegurar.

Por otro lado, el desarrollo de técnicas moleculares ha introducido una nueva dimensión en el estudio y comprensión del papel de los cambios cromosómicos en la génesis del tumor, por lo que en un futuro próximo los citogenetistas y los genetistas moleculares deberán trabajar coordinados y de forma conjunta para aportar una mayor información sobre el origen y desarrollo del cáncer. En la actualidad, es muy importante la colaboración entre la citogenética y la biología molecular, con el fin de encontrar un mayor número de regiones genómicas que puedan ser candidatas a tener una actividad oncogénica y neoplásica.

TÉCNICAS DE HIBRIDACIÓN *IN SITU*. FUNDAMENTO Y APLICACIONES EN NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

Introducción

La técnica de hibridación *in situ* fluorescente (FISH) permite detectar y localizar secuencias específicas de ácidos nucleicos (DNA o RNA) sobre preparaciones cromosómicas, extensiones celulares y cortes de tejido[49]. La utilización de las técnicas de FISH ha aumentado en los últimos años como complemento de las técnicas de citogenética convencional. La ventaja de la citogenética convencional radica en la visualización de todos los cromosomas, pero presenta varias limitaciones: es necesario que existan células en división y, en ocasiones, pueden valorarse pocas metafases (menos de 20). Por otra parte, los cromosomas pueden presentar unas bandas cromosómicas poco definidas, lo cual hace imposible determinar el cariotipo, debido a una calidad morfológica deficiente. En este caso, no será factible la detección de alteraciones cromosómicas que afecten a regiones genéticas muy pequeñas. Para complementar las técnicas citogenéticas convencionales, actualmente se dispone de las técnicas de FISH (tabla 3.9).

Las técnicas de FISH consisten en utilizar pequeñas secuencias de DNA de cadena sencilla, a las que llamaremos *sondas*, previamente marcadas directa o indirectamente con moléculas fluorescentes (p. ej., FITC o rodamina). La base metodológica para la realización de dichas técnicas requiere un proceso de desnaturalización del DNA tanto de la muestra como de la sonda que se va a utilizar (que deberá ser complementaria del fragmento de DNA que se desee estudiar). Dicho proceso se basa en la rotura de los puentes de hidrógeno que unen la doble hélice del DNA mediante la utilización de temperaturas elevadas (70-80 °C), quedando DNA de una sola hebra. La desnaturalización del DNA puede producirse, también, por variaciones en el pH (fig. 3.12). Posteriormente, se procede a hibridar los DNA de la muestra y de la sonda, incubándolos

TABLA 3.9

Ventajas y limitaciones de la técnica de citogenética convencional y de hibridación *in situ* (FISH)

Técnica	Ventajas	Limitaciones
Citogenética convencional	Aporta información de todos los cromosomas Bajo coste económico	Requiere células en división del clon neoplásico Interpretación difícil en caso de obtener cromosomas de mala calidad Permite el análisis de pocas células Baja sensibilidad
Hibridación *in situ* fluorescente (FISH)	Aplicable tanto sobre metafases como sobre núcleos en interfase Permite el análisis de un mayor número de células Mayor sensibilidad	Aporta información concreta dependiendo del tipo de sonda utilizada Alto coste económico

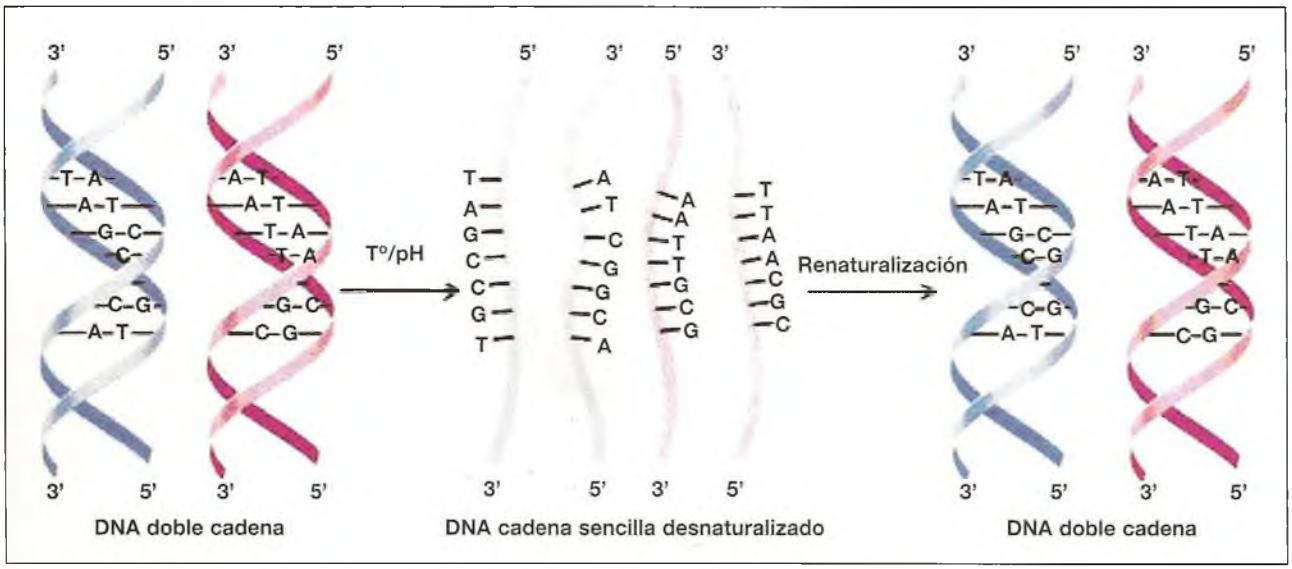


Figura 3.12. Proceso de desnaturalización del DNA.

a una temperatura de 37 °C, de modo que se produzca la unión entre ambos por complementariedad de bases (proceso de renaturalización). La desnaturalización y renaturalización (o hibridación) del DNA son, por tanto, procesos reversibles mediados por cambios de temperatura. La valoración de los resultados de hibridación se realiza microscópicamente y teniendo en cuenta el tipo de sonda utilizada. Las etapas generales de la FISH se detallan en la figura 3.13.

A principios de la década de 1990, se introdujeron las técnicas de FISH en el laboratorio de hematología, aplicadas al diagnóstico, pronóstico y seguimiento de las neoplasias hematológicas. Los tipos de sondas aplicadas de forma rutinaria son las sondas centroméricas (que marcan las secuencias repetidas de toda una región centromérica), las sondas de pintado cromosómico (constituidas por una librería de sondas que abarcan todo un cromosoma) y las sondas de secuencia única (*locus* específico), que marcan regiones cromosómicas muy concretas (fig. 3.14). Estas sondas se refieren como sondas de

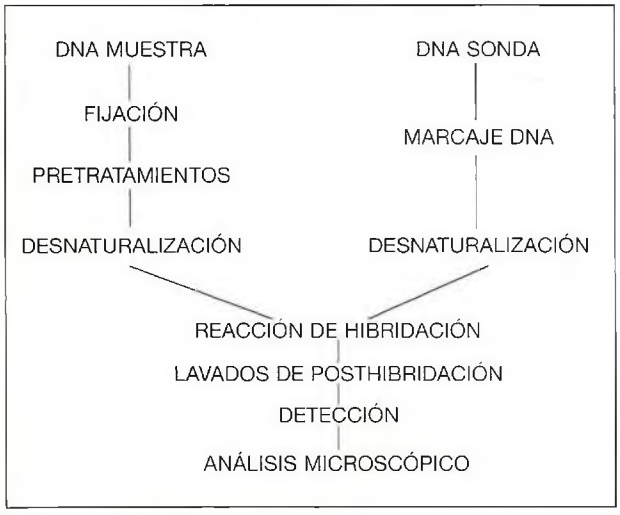


Figura 3.13. Etapas de la técnica de hibridación *in situ*.

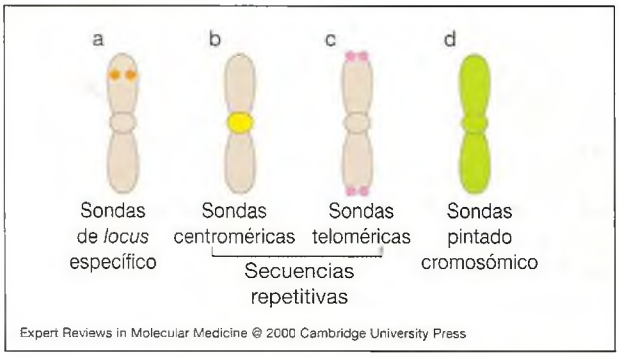


Figura 3.14. Principales tipos de sondas utilizadas en el diagnóstico de las neoplasias hematológicas.

FISH «convencionales», por ser de uso generalizado. Recientemente, han aparecido nuevas tecnologías de FISH con el objetivo de resolver las carencias de las sondas «convencionales» y aportar una mayor información en el conocimiento del cariotipo. Dichas metodologías comprenden la técnica de hibridación genómica comparada (HGC)[50], de multicolor-FISH (M-FISH) y Spectral Karyotyping (SKY)[51] y la técnica de multibanding-FISH[52]. Por otra parte, también se ha desarrollado una serie de técnicas que combinan la identificación celular con la técnica FISH de forma que permiten asociar una alteración cromosómica con un linaje celular concreto. Entre ellas, destacan las técnicas de MACHIS (Morfología-Anticuerpo-Cromosoma e Hibridación *in situ*), descrita por Wessman y Knuutila en 1988[53], MGG-FISH (May-Grünwald-Giemsa-Hibridación *in situ* fluorescente) descrita por Van Lom et al en 1993[54] y FICTION (Fluorescence Immunophenotyping and interphase cytogenetics as a tool for investigation of neoplasms), descrita por Weber-Matthiesen et al en 1992[55].

Hibridación *in situ* «convencional»

La FISH «convencional», de aplicación más generalizada en el estudio de las neoplasias hematológicas, se basa en la uti-

lización de tres tipos principales de sondas: centroméricas, de pintado cromosómico y de secuencia única, también llamadas de *locus* específico.

Las sondas centroméricas están formadas por secuencias repetitivas de DNA que hibridan con el DNA de la región centromérica del cromosoma. Éstas permiten detectar alteraciones cromosómicas numéricas tanto sobre metafases como sobre núcleos en interfase (citogenética interfásica). Mediante esta técnica, puede valorarse la presencia o ausencia de alteraciones numéricas (monosomías o trisomías) sin necesidad de tener células en división (fig. 3.15).

Las sondas de pintado cromosómico están formadas por una batería de sondas que, en conjunto, hibridan con todo un cromosoma específicamente. Dichas sondas permiten visualizar alteraciones citogenéticas numéricas y estructurales sobre metafases, y confirmar de forma inequívoca cariotipos con translocaciones complejas o con cromosomas marcadores. El pintado cromosómico es de gran utilidad cuando los cromosomas son de mala calidad y la citogenética convencional, por ella misma, no puede resolver el cariotipo (fig. 3.16).

Las sondas de secuencia única o *locus* específico hibridan con el DNA de una región genómica concreta, correspondiente a un gen o a una banda cromosómica. Con ellas, es posible detectar alteraciones numéricas y estructurales tanto en metafases como en núcleos interfásicos. La utilización de estas sondas es de gran utilidad para descartar alteraciones cromosómicas difíciles de identificar con las técnicas de bandeo convencionales. En la actualidad, existe un elevado número de sondas comerciales de doble marcación que permiten detectar las translocaciones más típicas de los diferentes tipos de linfomas, y que son de gran utilidad diagnóstica[56] (fig. 3.17).

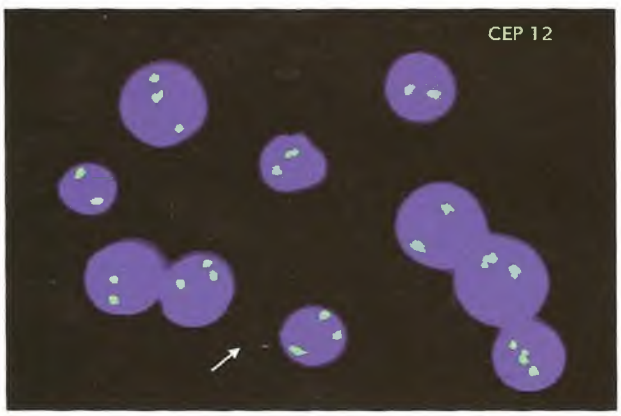


Figura 3.15. FISH sobre núcleos interfásicos de un paciente con LLC-B hibridados con una sonda centromérica del cromosoma 12 marcada con fluorocromo FITC (verde). Se observan núcleos con trisomía 12.

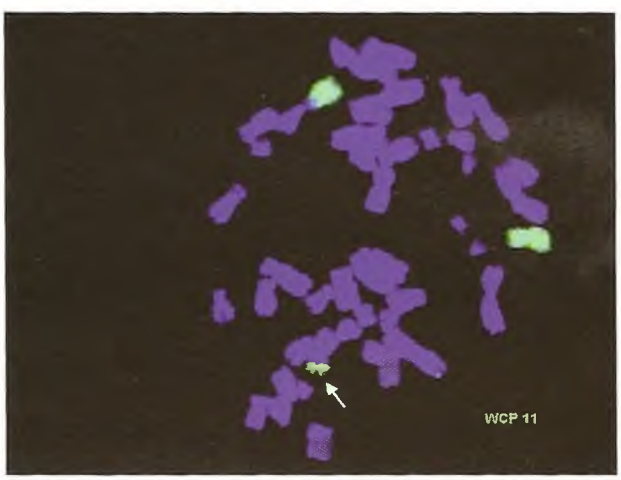


Figura 3.16. FISH aplicando una sonda de pintado cromosómico del cromosoma 11 marcada con FITC (verde). Se observa material del cromosoma 11 en otro cromosoma del grupo C.

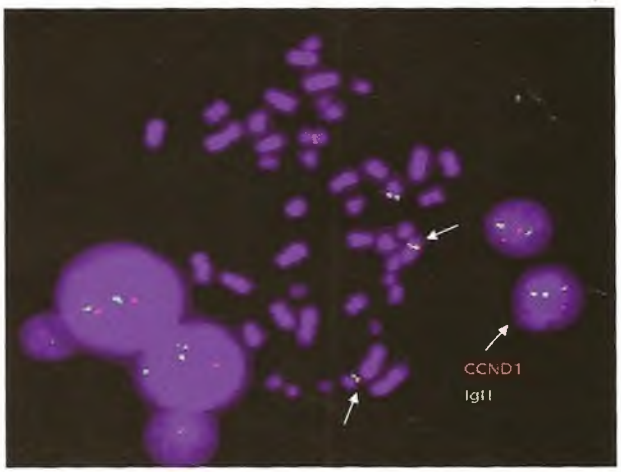


Figura 3.17. FISH sobre una muestra con metafases y núcleos interfásicos aplicando la sonda de locus específico para detectar la translocación t(11;14)(q13;q32) característica del linfoma del manto. En *spectrum orange* (rojo) la sonda para el oncogén bcl-1 y en *spectrum green* (verde) la sonda para el gen de las IgH.

En la figura 3.18 se refleja la visualización sobre metafases y núcleos en interfase de los distintos tipos de sondas aplicadas en FISH «convencional».

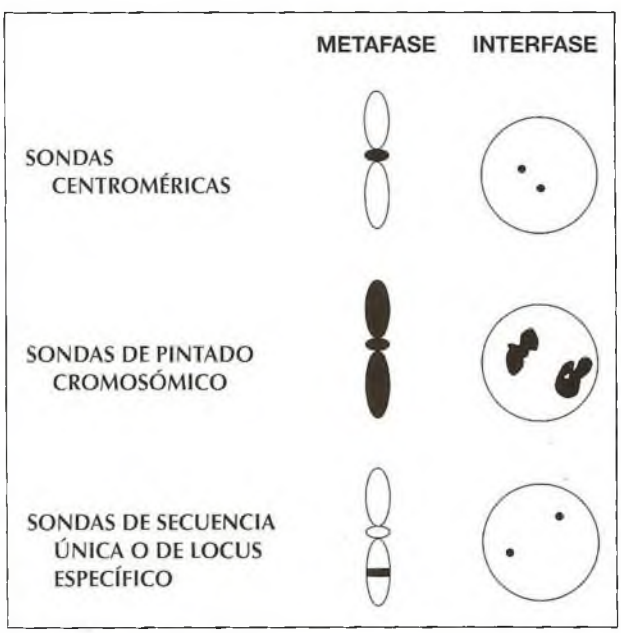


Figura 3.18. Tipos de sondas utilizadas en FISH «convencional». Visualización en metafase e interfase

La FISH, como complemento de la citogenética convencional, puede ser de utilidad diagnóstica y pronóstica en el estudio de las neoplasias hematológicas. En la tabla 3.10 se relacionan los tipos de sondas «convencionales» más utilizadas en el estudio de estas neoplasias[57-64]. En la tabla 3.11 se comparan las técnicas de FISH «convencional» con las nuevas técnicas de FISH. En la tabla 3.12 se resumen las recomendaciones respecto al número de células que se deben analizar, los individuos controles realizables y los niveles de corte para las sondas centroméricas, de *locus* específico y de pintado cromosómico.

Nuevas técnicas de FISH

Las técnicas de Multicolor-FISH (M-FISH) o Spectral Karyotyping (SKY), Multibanding-FISH e hibridación genómica comparada (HGC) han aparecido con el objetivo de resolver las carencias de la FISH «convencional» y aportar una mayor información en el conocimiento del cariotipo.

Las técnicas de Spectral Karyotyping (SKY) y multicolor-FISH (M-FISH) utilizan una batería de sondas de pintado cromosómico, marcadas de forma combinatoria con cinco fluorocromos, que permiten la clasificación de los 24 cromosomas humanos a partir de siete colores diferentes[51]. El M-FISH utiliza un software que permite la detección y la discriminación de 27 sondas diferentes que hibridan a la vez sobre las metafases. El SKY, en cambio, utiliza un software más complejo que escanea las preparaciones después de la hibridación sobre metafases, y para identi-

TABLA 3.10

Sondas comerciales aplicables al diagnóstico hematológico

LAM, SMD, SMPC	SLPC
• BCR/ABL dual fusión	• BCL1/IgH
• AML1/ETO	• BCL2/IgH
• PML/RARA dual fusión	• c-MYC/IgH/CEP8
• CBFB	• BCL6
• MLL	• IgH
• C-MYC	• CEP3
• 5q31/7q31/CEP 8	• MALT1 (18q21)
	• MALT1/IgH
LAL	• API2/MALT1
• BCR/ABL dual fusión	• LLC1: CEP12/13q14/13q34
• MLL	• LLC2:11q22.3 (ATM)/17p13 (P53)
• TEL/AML1	• 13q14 (D13S319)
• c-MYC	• FGFR3/IgH
• Centroméricas (hiperdiploidías)	• ALK

TABLA 3.11

Ventajas e inconvenientes de las técnicas de hibridación *in situ* «convencionales» y de las nuevas técnicas de hibridación *in situ*

	Ventajas	Inconvenientes
FISH centromérica	• No requiere células en división	• Sólo informa de alteraciones numéricas
FISH de *locus* específico	• No requiere células en división	• Sólo informa del locus que se estudia
FISH de pintado cromosómico	• Muy útil para descifrar cariotipos complejos	• Requiere células en división • Sólo informa del cromosoma concreto que se analiza
Hibridación genómica comparada (HGC)	• Requiere una pequeña cantidad de DNA. No requiere células en división • Permite estudiar material archivado (congelado, en parafina) • Permite detectar ganancias y pérdidas de DNA en todo el genoma	• Sólo se detectan alteraciones citogenéticas que impliquen ganancias y pérdidas de DNA • Requiere una infiltración tumoral mínima del 50% • No permite cuantificación de las ganancias o pérdidas • No detecta ganancias de DNA menores de 4-5 Mb ni pérdidas de 10-20 Mb
Multicolor FISH-SKY	• Permite obtener información de todos los cromosomas • Muy útil para descifrar cariotipos complejos	• Requiere células en división • No detecta alteraciones estructurales dentro de un mismo par cromosómico • No detecta alteraciones estructurales de DNA menores de 500-1.500 kb
Multibanding FISH (RxFISH)	• Permite obtener información de todos los cromosomas • Muy útil para descifrar cariotipos complejos • Detecta alteraciones estructurales dentro de un mismo par cromosómico	• Requiere células en división • No detecta alteraciones estructurales de DNA menores de 500-1.500 kb

TABLA 3.12

Recomendaciones respecto al número de células que se deben analizar, los individuos controles realizados y los niveles de corte para las sondas centroméricas, de *locus* específico y de pintado cromosómico

	Número de células analizadas	Controles	Niveles de corte (x ± 3SD)*
Sondas centroméricas	500	10	Monosomías > 10% Trisomías > 5%
Sondas de *locus* específico	200	10	*Deleciones > 5% Ganancias > 5% Alteraciones estructurales > 1%
Sondas de pintado cromosómico	10	No requiere	Mínimo, dos metafases con la misma alteración

*Utilizando una sonda de control interno.

ficar los cromosomas utiliza la visualización del espectro de fluorocromos predefinido para cada cromosoma. En los dos casos, el resultado de la hibridación permite visualizar simultáneamente cada par cromosómico de un color diferente (fig. 3.19).

Las técnicas de M-FISH y SKY son muy útiles para determinar de forma inequívoca cariotipos complejos y cromosomas no identificables con las técnicas de bandeo (cromosomas marcadores). Estas técnicas presentan una limitación en las patologías que tienen un índice de proliferación celular bajo, debido a la necesidad de realizar el estudio sobre células en división. Asimismo, estas tecnologías no permiten el reconocimiento de algunos puntos de rotura, como los que están asociados con deleciones, inserciones y adiciones que afectan al mismo cromosoma (marcado todo del mismo color) y translocaciones de pequeño tamaño (inferiores a 500-1.500 kb), para los cuales es necesario utilizar sondas de *locus* específico. Desde la aparición de estas técnicas de FISH-multicolor han aparecido numerosas publicaciones en las que se demuestra que incrementan la interpretación del cariotipo convencional y ayudan al diagnóstico de las neoplasias hematológicas[65-71].

En 1997 apareció la técnica de multibanding-FISH (RxFISH), técnica similar a las de M-FISH o SKY, que permite la generación de un patrón de bandas de distintos colores para cada cromosoma (fig. 3.20)[52]. Dicha metodología se basa en las homologías genómicas que existen entre la especie humana y diferentes especies de mono (Gibón). Las ventajas que ofrece respecto a las técnicas de M-FISH o SKY radica en que permite identificar alteraciones estructurales

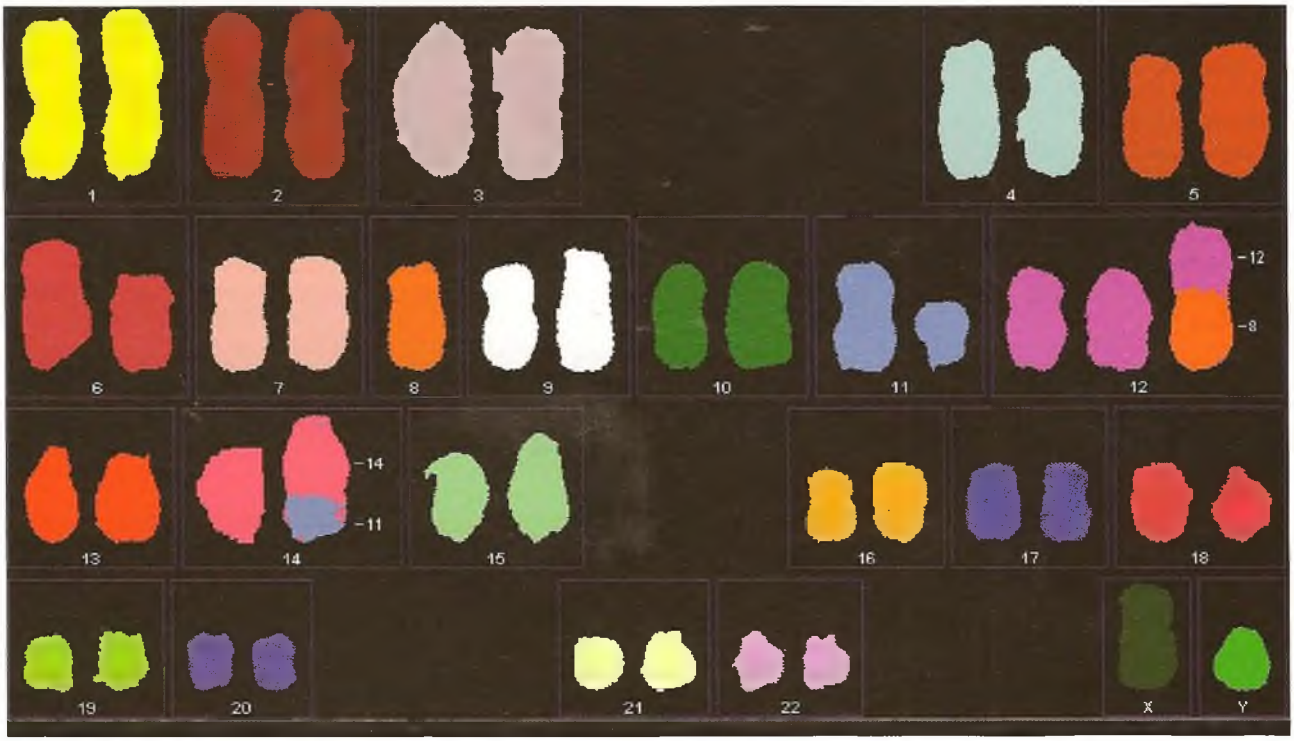


Figura 3.19. Aplicación de la técnica de SKY sobre metafases de un paciente con un linfoma del manto. Como alteraciones cromosómicas observamos: una translocación entre los cromosomas 11 y 14, una translocación entre los cromosomas 8 y 12 y una monosomía del cromosoma 8.

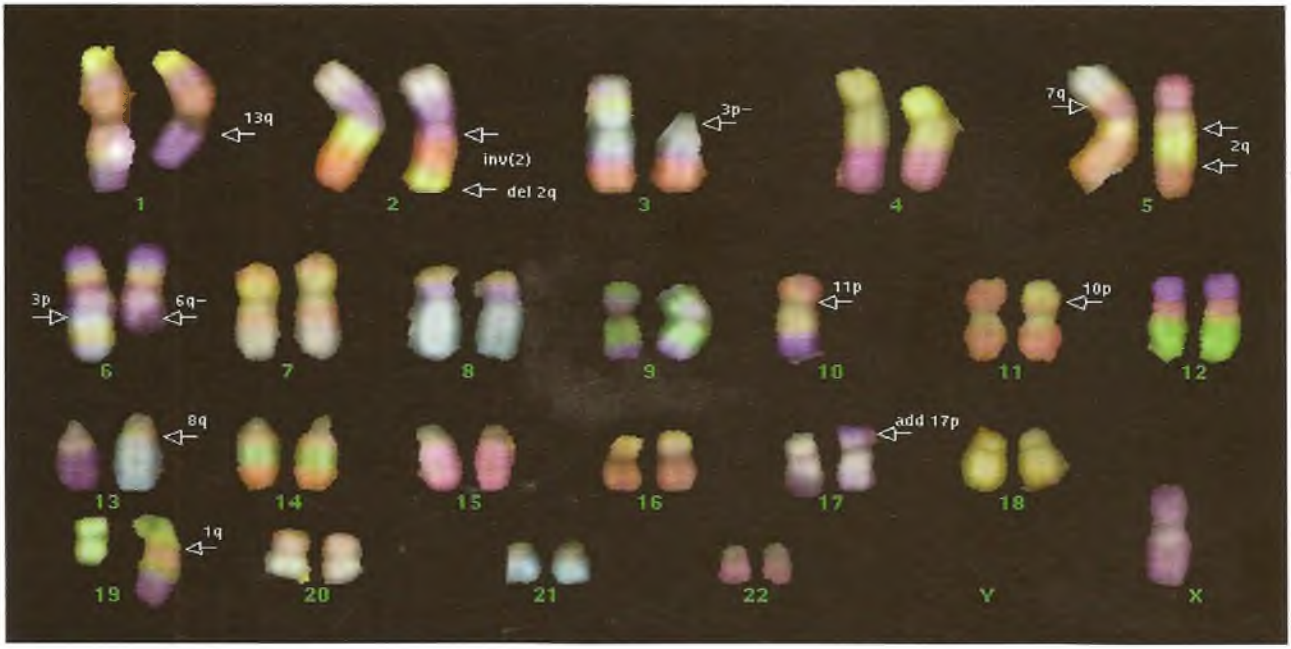


Figura 3.20. Aplicación de la técnica de RxFISH sobre metafases de un paciente afectado de un síndrome de Sézary que presentaba un cariotipo complejo.

dentro de un mismo cromosoma (inversiones y translocaciones). De esta manera, los puntos de rotura de los posibles reordenamientos pueden ser localizados con mayor exactitud. El RxFISH permite determinar cariotipos complejos y cromosomas no identificables con las técnicas de bandas G (cromosomas marcadores), pero tiene la limitación, como M-FISH y SKY, de necesitar células en división. En los últimos años, esta técnica ha quedado en desuso a favor de las técnicas de M-FISH y SKY, por lo cual no existen demasiadas referencias en la literatura[72-75].

La hibridación genómica comparada (HGC, o CGH, del inglés, *comparative genomic hybridization*) es una técnica citogenética-molecular que permite detectar cambios numéricos de secuencias de DNA (pérdidas/deleciones, ganancias/amplificaciones) en un tejido tumoral. Dicha técnica se basa en la hibridación *in situ* del DNA tumoral y de un DNA control normal, marcados ambos con fluorocromos de distinto color, sobre metafases normales (fig. 3.21). Después de la hibridación, las variaciones numéricas del DNA tumoral se cuantifican mediante un software que calcula el coeficiente de intensidad de fluorescencia entre el DNA tumoral y el DNA normal (fig. 3.22)[50]. La HGC tiene particular interés en el análisis de cambios numéricos de secuencias de DNA en tumores sólidos y en neoplasias hematológicas de índice proliferativo bajo, ya que para la realización de la técnica no es necesaria la obtención de metafases. Asimismo, es de gran utilidad en los casos que presentan cariotipos complejos con numerosos cromosomas marcadores, dobles diminutos y regiones de tinción homogénea. Esta técnica únicamente

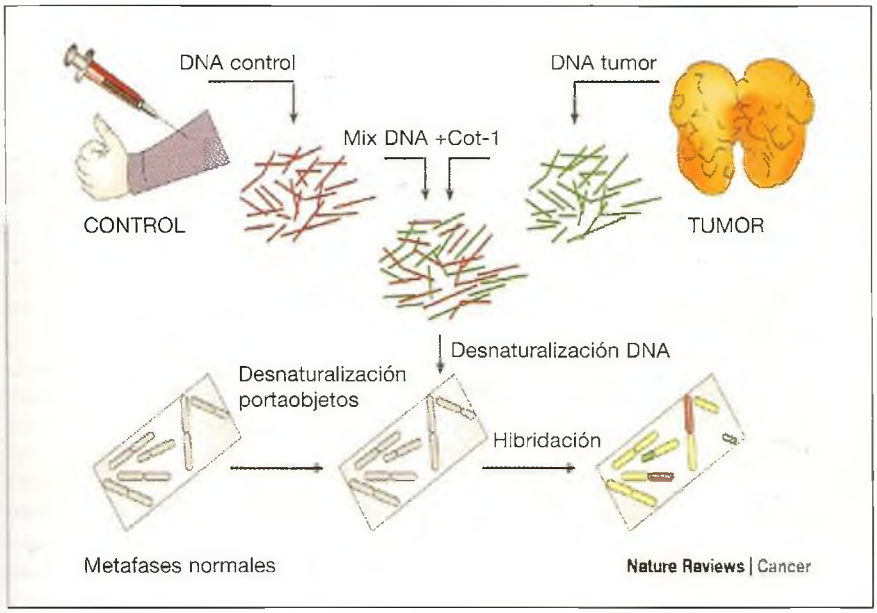


Figura 3.21. Etapas de la técnica de hibridación genómica comparada (HGC).

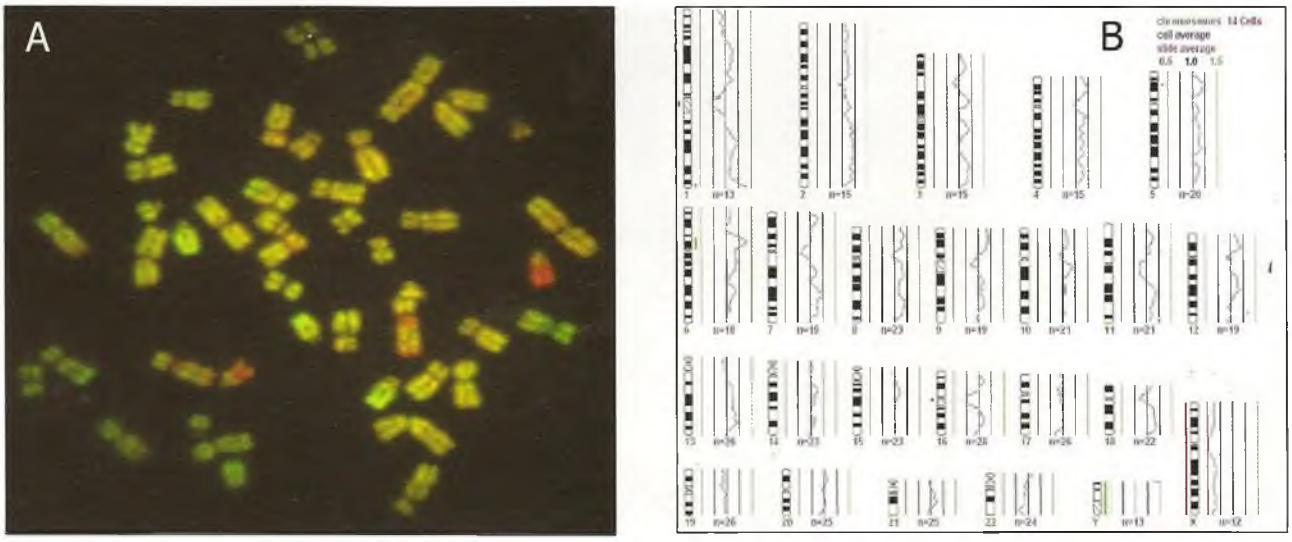


Figura 3.22. Imagen de una HGC. *A*, imagen combinada FITC, spectrum Red y DAPI tal y como se observa en el microscopio de fluorescencia. *B*, diagrama de barras con los resultados de ganancias y pérdidas de las diferentes bandas cromosómicas.

detecta cambios presentes en una proporción elevada de células tumorales (50%). Por otra parte, no permite detectar translocaciones, inversiones y otras alteraciones de tipo equilibrado que no comporten ganancias o pérdidas de material genético[76-80]. Recientemente, se ha descrito la técnica de CGH-array[81], que se basa en utilizar un conjunto de BAC, Bacterial Artificial Chromosomes (secuencias de DNA de pequeño tamaño; 100-200 kb) de una región concreta o que abarque un cromosoma de interés o el genoma completo, para fabricar una matriz de BAC sobre la cual se puede realizar la hibridación con el DNA de la muestra. Al igual que en la técnica de HGC, el DNA de la muestra y el de los BAC se marca con distintos fluorocromos y se cohibrida. Como resultado se observan ganancias y pérdidas de regiones concretas de DNA. La ventaja de esta técnica es que se puede cuantificar de manera más precisa el número de copias de una región concreta que si se aplica una HCG convencional, y además su resolución es mayor (1 Mb-10 Mb). Por otra parte, la técnica de CGH-array requiere una tecnología y bioinformáticos especializados en el análisis de los datos obtenidos, debido a la elevada complejidad de los resultados. En el momento actual, su uso debería regirse por una estrategia razonada, y aplicarse principalmente en proyectos de investigación[82].

Combinación de las técnicas de hibridación *in situ* con técnicas de identificación celular

El diagnóstico y la clasificación de determinadas hemopatías malignas se basa en el estudio morfológico, inmunológico y citoquímico de sangre periférica, de médula ósea o de ganglio linfático. Las alteraciones cromosómicas estudiadas tanto en sangre periférica como en médula ósea por técnicas de citogenética convencional y de hibridación *in situ* pueden aportar información para el diagnóstico y el pronóstico de la enfermedad. Las técnicas morfológicas, inmunológicas y de citogenética convencional-HIS se utilizan rutinariamente como técnicas independientes. La existencia de técnicas combinadas de identificación citológica o inmunológica y de análisis cromosómico es muy útil para poder relacionar directamente las alteraciones cromosómicas con las células alteradas y con su linaje celular.

En 1984, Teerenhovi et al describieron la técnica de MAC (morfología-anticuerpos-cromosomas)[83] basada en la conservación de la membrana citoplasmática de las células en metafase para su posterior identificación mediante técnicas citoquímicas y/o inmunológicas. Para poder realizar dicha técnica es necesario realizar un cultivo de citogenética convencional para obtener metafases. En el proceso de extracción del cultivo se utiliza un hipotónico suave, que expande la célula sin romper la membrana citoplasmática. Las preparaciones se obtienen por citocentrifugación. Mediante técnicas citoquímicas o inmunológicas se identifica el linaje celular y, posteriormente, puede realizarse la técnica de FISH convencional, asociando la alteración cromosómica analizada con el tipo celular estudiado. En este caso, la técnica se denomina MACHIS (morfología-anticuerpos-cromosomas-hibridación *in situ*)[53]. La utilización de estas técnicas ha quedado restringida por el hecho de que el número de células analizable es escaso, y el rendimiento ha sido superado por otras técnicas.

El desarrollo de la citogenética interfásica, con la utilización de sondas repetitivas de DNA específicas para determinadas regiones cromosómicas, ofrece nuevas posibilidades para el estudio de células portadoras de alteraciones cromosómicas numéricas, detectables con sondas centroméricas, o bien de alteraciones estructurales bien definidas para las cuales exista una sonda de locus específico.

Hoy día, existen principalmente dos técnicas que utilizan la citogenética interfásica, combinada con otros métodos, para la identificación celular. Dichas técnicas son las denominadas FICTION[55] y MGG-FISH[54].

La técnica de FICTION se basa en la realización de técnicas inmunohistoquímicas sobre preparaciones de sangre periférica o de médula ósea (frotis o preparaciones obtenidas por citocentrifugación del material-citospins). Esta técnica permite identificar el linaje de las células estudiadas mediante marcadores inmunológicos de superficie específicos, a la vez que se analiza el resultado de la hibridación *in situ* utilizando sondas específicas para la alteración cromosómica que se desee estudiar. La técnica requiere que los anticuerpos específicos y

las sondas de DNA que se utilicen estén marcados directa o indirectamente con un fluorocromo[84,85].

La técnica de MGG-FISH se basa en la identificación celular a partir de una tinción de May-Grünwald-Giemsa. Se localiza el tipo celular que se quiere estudiar sobre extensiones de sangre periférica o médula ósea, y se procede a aplicar la técnica de FISH con las sondas adecuadas en cada caso. Posteriormente, se relocalizan las células sobre el mismo portaobjetos con la intención de valorar el resultado de FISH y poder asociar la alteración citogenética estudiada a un determinado linaje celular[86].

TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR

Introducción

El uso de las técnicas de biología molecular es una práctica habitual en el diagnóstico de las neoplasias hematológicas. Éste se lleva a cabo considerando las observaciones del estudio morfológico junto con el de técnicas adicionales como la inmunohistoquímica, citofluorometría, citogenética y la FISH.

La aplicación de las técnicas de biología molecular se basa en el análisis de los ácidos nucleicos, RNA o DNA, mediante diferentes tecnologías, entre las que hay que destacar el *Southern Blot*, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la RT-PCR (ensayo de transcripción reversa unido a la PCR). Los estudios a partir del DNA pueden realizarse mediante la aplicación de las técnicas de *Southern Blot* o de PCR. La técnica de *Southern Blot* fue la utilizada inicialmente en el diagnóstico de las hemopatías, mientras que la técnica de PCR es más reciente.

El *Southern Blot* se basa en la digestión del DNA con enzimas de restricción. Los fragmentos generados se separan mediante electroforesis en un gel de agarosa. A continuación, el DNA se desnaturaliza, se transfiere y se fija a una membrana de nylon que, posteriormente, se hibrida con una sonda específica marcada radiactivamente (mayoritariamente, aunque existen otras técnicas de marcación) que reconoce el gen de interés. La membrana se pone en contacto con una placa radiográfica que permite visualizar la localización de los fragmentos de DNA complementarios a la sonda que se ha utilizado.

La técnica de PCR consiste en la amplificación del DNA de la región de interés mediante una polimerasa termoestable, utilizando unos cebadores que hibridan específicamente en los dos extremos de la región estudiada. La reacción de PCR consta de tres etapas: *desnaturalización* (en la que se somete el DNA a una temperatura elevada de más de 95 °C de forma que se separen las dos cadenas), *hibridación* (esta etapa dura de 1-2 minutos y se realiza entre 50 y 65 °C, y en ella los cebadores se unen específicamente a la región estudiada) y *extensión* (esta última se realiza a 72 °C y en ella la polimerasa realiza copias de la secuencia elegida). Estas tres etapas se repiten cíclicamente unas 30-40 veces, de forma que se generan billones de copias. La visualización del producto de PCR puede realizarse mediante electroforesis en geles de agarosa o en geles de acrilamida (estos últimos con mayor poder de resolución) o mediante electroforesis capilar (con una resolución de un par de bases).

La técnica de PCR presenta como principales ventajas que puede llevarse a cabo con mayor rapidez que el *Southern Blot*, precisa menos cantidad de material de partida (permitiendo trabajar con biopsias de pequeño tamaño o muestras con poca celularidad) y el material de estudio puede estar parcialmente degradado, hecho que permite que se pueda aplicar a biopsias que se hallan incluidas en parafina. Por el contrario, el *Southern Blot* es más específico, ya que permite detectar muchos reordenamientos génicos, especialmente cuando son posibles diferentes puntos de rotura. En estos casos, la aplicación de las técnicas de PCR resulta más compleja ya que es necesario utilizar muchos cebadores diferentes, pero esta ventaja puede ser compensada mediante la aplicación de la técnica de FISH (comentada en la sección anterior) (tabla 3.13).

La amplificación del RNA se lleva a cabo para detectar determinadas translocaciones cromosómicas[87]. Una vez se ha aislado el RNA, éste es convertido en DNA complementario (DNAc) mediante la transcriptasa reversa, con la ayuda de cebadores oligo-dT (que se unirán a la cola de poliadeninas del RNA) o bien con cebadores de seis bases al azar (*random* hexámeros). Una vez se sintetiza el DNAc, se realiza una PCR con los cebadores específicos para el gen objeto de estudio. Este proceso recibe el nombre de ensayo de transcripción reversa unido a la PCR o ensayo de retrotranscripción unido a PCR (RT-PCR).

Las técnicas de biología molecular permiten:

- realizar estudios de clonalidad,
- estudiar la presencia de translocaciones cromosómicas, y
- estudiar alteraciones de genes, como por ejemplo, las mutaciones o las inserciones en tándem del gen FLT3 o la sobreexpresión del gen WT1, entre otras.

TABLA 3.13

Ventajas y limitaciones de las técnicas de *Southern Blot* y PCR

	Southern Blot	PCR
Material	DNA genómico	DNA genómico, DNAc, RNA, DNA fragmentado (tejidos parafinados)
Sensibilidad	Media (1/20 a 1/100)	Alta (hasta $1/10^6$)
Velocidad	Lenta (1 semana)	Rápida (1-2 días)
Especificidad	Alta (detección de reordenamientos con diferentes puntos de rotura)	Media
Dificultad técnica	Media	Mínima
Aplicación EMR	No	Sí

EMR: enfermedad mínima residual.

Estudios de clonalidad

Una de las aplicaciones más frecuentes de la biología molecular al diagnóstico de las hemopatías es la detección de clonalidad. En los procesos linfoproliferativos, el estudio de clonalidad se lleva a cabo analizando el reordenamiento del gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas o del receptor de células T (RCT), según que el origen del linfoma sea de estirpe B o T, respectivamente. En los procesos mieloproliferativos crónicos, la detección de clonalidad debe llevarse a cabo mediante otras aproximaciones, y una de las más frecuentemente utilizadas es el estudio del patrón de inactivación del gen HUMARA.

Detección de clonalidad en procesos linfoproliferativos

La detección de clonalidad en los procesos linfoproliferativos se basa en el hecho de que durante la maduración linfocitaria se produce el reordenamiento de los genes que codifican para las cadenas que forman las inmunoglobulinas (Ig) o el receptor de células T (RCT).

Las inmunoglobulinas están compuestas por dos cadenas polipeptídicas pesadas y dos cadenas ligeras (kappa o lambda). El RCT está formado por dos cadenas polipeptídicas unidas por puentes disulfuro formando un heterodímero que, a su vez, se asocia con el CD3. Los heterodímeros que forman el RCT pueden resultar de la unión de una cadena alfa (α) con una cadena beta (β) (receptor α/β), o bien de la unión de una cadena gamma (γ) con una cadena delta (δ) (receptor γ/δ).

Cada uno de los genes que codifican para las diferentes cadenas que forman los receptores se encuentran, en su configuración germinal o embrionaria, formados por segmentos discontinuos de DNA. Estos segmentos pueden ser regiones variables (V), regiones de diversidad (D), regiones de unión o *joining* (J), y regiones constantes (C) (fig. 3.23a). Las regiones V, J y C forman parte de todos los genes que codifican para los receptores. Las regiones D sólo están presentes en el gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (*immunoglobulin heavy chain*, IgH) y en los genes de las cadenas β y δ del RCT, pero no existen en los genes de las cadenas ligeras de las inmunoglobulinas, ni en los genes de las cadenas α y γ del RCT.

El reordenamiento comienza con la unión de una región D a una región J y, posteriormente, una región V se une al segmento DJ. En el caso de las cadenas ligeras de las inmunoglobulinas (kappa y lambda), el RCT alfa y el RCT gamma, se produce directamente la unión entre las regiones V-J. El reordenamiento del gen produce la aproximación de una única región V con una sola región D (si está presente) y una única región J. El resto de los segmentos no utilizados son eliminados. Al haber numerosos segmentos V, D y J, pueden producirse una multitud de reordenamientos VDJ o VJ posibles. Por otro lado, en las zonas de unión D-J y V-DJ puede insertarse un número variable de nucleótidos al azar por la enzima terminal deoxinucleotidil transferasa (TdT),/2 lo que genera una mayor variabilidad (fig. 3.23b). Finalmente, en el caso de los linfocitos B la variabilidad puede aumentar aún más mediante la hipermutación somática, fenómeno que consiste en la adquisición de mutaciones adicionales en las regiones V de las IgH y de las cadenas ligeras durante el reconocimiento antigénico en los centros germinales[88].

El reordenamiento se produce de forma secuencial. En el caso de los linfocitos B, en primer lugar se produce el reordenamiento del gen de las IgH, a continuación lo hace el gen de la cadena ligera kappa resultando, potencialmente, en la expresión de cadenas ligeras kappa, y si el reordenamiento no resulta «adecuado», se producirá la deleción del reordenamiento de la inmunoglobulina kappa y se realizará el reordenamiento de la lambda, y potencialmente se expresarán cadenas ligeras lambda[89]. En la diferenciación de los linfocitos T, se reordenará en primer lugar el RCT δ, posteriormente el RCT γ, con la expresión potencial de un receptor RCT γ/δ, o bien se continuará con el reordenamiento del RCT β y la deleción del RCT δ con el subsiguiente reordenamiento del RCT α para producir la expresión de un RCT α/β.

Como resultado de estos reordenamientos, cada linfocito presenta un reordenamiento del receptor único y, por tanto, en una población de linfocitos normal estos reordenamientos serán diferentes en composición y tamaño.

En una neoplasia linfoide, al proceder todas las células de una misma progenitora maligna, presentarán el DNA reordenado de la misma forma, tanto en composición como en tamaño, con la excepción de las neoplasias que tengan como origen una célula progenitora muy inmadura en la que todavía no se hubiera producido el reordenamiento de los receptores antigénicos.

Inicialmente, la detección de clonalidad se realizó mediante la técnica de *Southern Blot* en la que el DNA es digerido con enzimas de restricción. Los fragmentos generados se separan mediante electroforesis en un gel de agarosa, y son transferidos y fijados a una membrana de nylon que, posteriormente, se hibrida con una sonda radiactiva que reconoce el gen de interés (IgH y RCT β, principalmente). En el caso de poblaciones policlonales o no clonales se detecta una única banda que

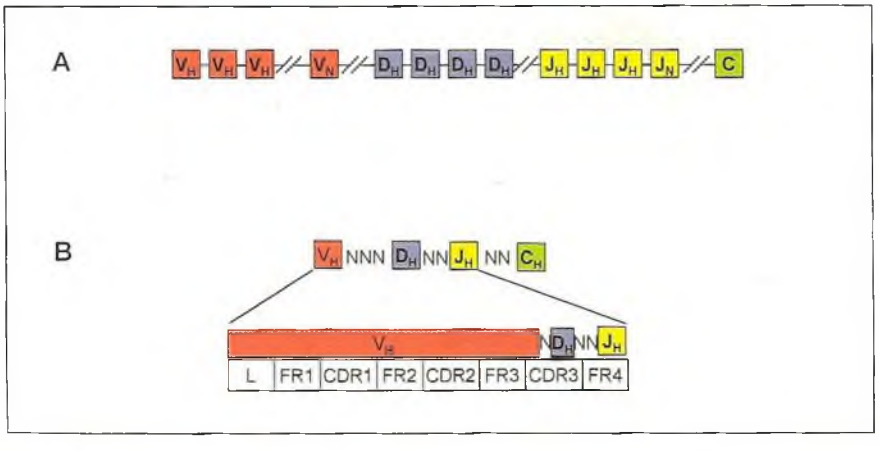


Figura 3.23. *A*, representación esquemática de la configuración del gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (IgH) antes de que tenga lugar el reordenamiento (línea germinal). *B*, representación de un posible reordenamiento del gen de la IgH en el que se han seleccionado una región V, una región D y una región J y se ha producido la inserción de nucleótidos al azar (N) por la TdT. En el esquema se muestran también la localización de las regiones *leader* (L), *framework* (RF) y de complementariedad (CDR).

corresponde al DNA de línea germinal. La detección de bandas adicionales, normalmente de menor tamaño (2-15 kb) y de mucha intensidad, indica la presencia de una población clonal.

A pesar de que el *Southern Blot* detecta prácticamente todos los reordenamientos e incluso algunas aberraciones cromosómicas en las que el segmento J está implicado, actualmente está siendo reemplazada por la técnica de la PCR. Esta última es una técnica más rápida y de menor complejidad, no precisa la utilización de radiactividad, tiene mayor sensibilidad, se precisa menor cantidad de DNA para realizarla y no es necesario que éste sea de gran calidad[90].

La técnica de PCR se basa en la amplificación del DNA de la región estudiada (VDJ o VJ) mediante una polimerasa termoestable, y utilizando cebadores que hibridan específicamente en los dos extremos de la región en estudio. Dado que especialmente los segmentos V suelen ser muy variables, con frecuencia, se han de utilizar varios cebadores para asegurar que se puedan unir específicamente a todas las regiones V posibles. Si el DNA procede de una población policlonal, existirán numerosos reordenamientos VDJ que diferirán en composición y tamaño, por lo que se obtendrán productos de PCR de diferente tamaño, mientras que si sólo existe un reordenamiento VDJ o una población mayoritaria con un mismo reordenamiento VDJ, se obtendrá un único producto de PCR o un producto de PCR dominante. La visualización del producto de PCR puede realizarse mediante electroforesis en geles de acrilamida o electroforesis capilar. Si se utilizan geles de acrilamida se observarán múltiples bandas discretas en el caso de una población policlonal, o una o dos bandas en el caso de una población monoclonal. Si se utiliza la electroforesis capilar se observarán múltiples picos, con una distribución de pesos moleculares gaussiana en el caso de poblaciones policlonales, y uno o dos picos en las poblaciones monoclonales (fig. 3.24).

Las regiones variables de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas están formadas por tres regiones hipervariables, denominadas regiones determinantes de complementariedad con el antígeno (*complementary determining regions* [CDR1, CDR2 y CDR3]). Las regiones CDR alternan con cuatro regiones relativamente invariables denominadas *framework* (FR). La región estudiada con mayor frecuencia mediante PCR es la región CDR3, utilizando cebadores que hibridan en la región FR3. El análisis de esta región detecta clonalidad en el 30-70% de los linfomas B. El estudio de las otras dos regiones, FR2 y FR1, permite aumentar la detección de clonalidad hasta el 90 a 95% de los casos. La razón por la cual no se detecta clonalidad en el 100% de los casos es la presencia de mutaciones en las zonas de unión de los cebadores, lo cual impide que éstos se unan al DNA y se produzca la reacción de la PCR, dando lugar a falsos negativos. Este fenómeno es especialmente frecuente cuando se analiza clonalidad en la región FR3 en los linfomas difusos de células grandes y en los linfomas foliculares[90-95].

En el caso de la clonalidad T, las técnicas de PCR suelen aplicarse al estudio del reordenamiento de los genes del RCT beta y del RCT gamma. El más frecuentemente analizado es el RCT gamma, ya que es el que presenta una menor complejidad y variabilidad (y, por tanto, es necesario un número menor de cebadores que en el caso del RCT beta), y por otra parte, es de los primeros en reordenarse (por lo que únicamente se hallará en línea germinal en los casos de neoplasias que se originen a partir de una célula T muy inmadura). Hay que tener en cuenta, además, que el reordenamiento del gen RCT gamma se produce aunque los linfocitos T sean del tipo α/β.

El estudio de clonalidad permite diferenciar un proceso linfoproliferativo reactivo de uno clonal. Sin embargo, es importante recordar que la detección de clonalidad no implica necesariamente la existencia de malignidad. Se han detectado poblaciones T clonales en individuos de edad avanzada. Por otro lado, algunas proliferaciones clínicas benignas tienen un origen clonal: linfocitosis T CD8+ (o CD4+), gammapatías monoclonales benignas o inmunodeficiencias, entre otras[90].

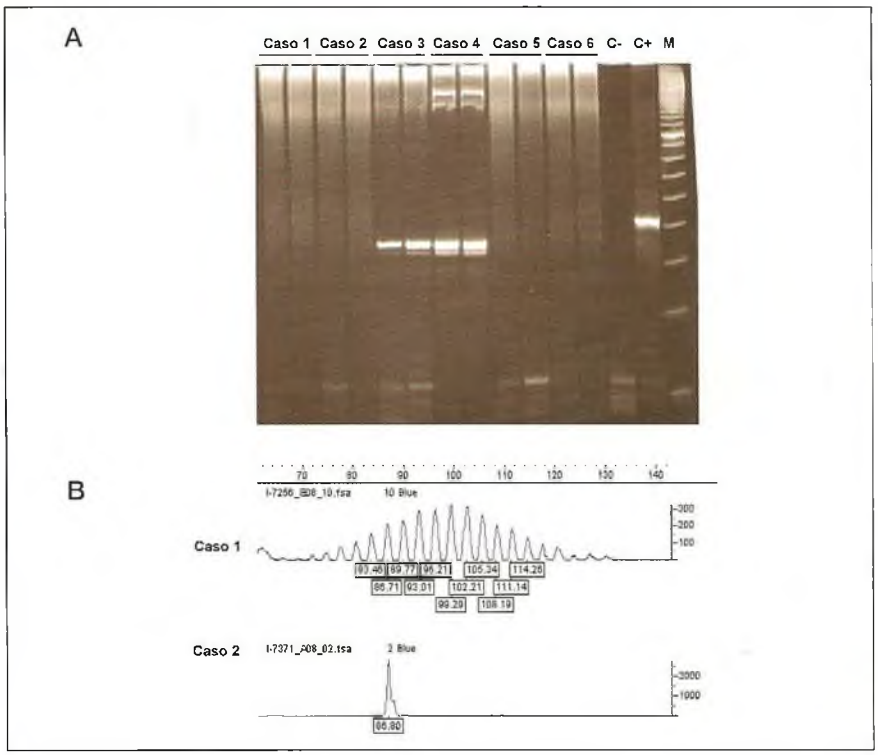


Figura 3.24. Estudio de clonalidad linfoide B mediante análisis por PCR de la región FR3. *A*, análisis del producto de la reacción de PCR mediante electroforesis en gel de acrilamida. Los casos 1, 2, 5 y 6 son policlonales y los casos 3 y 4 en los que se observa una única banda mayoritaria son clonales. Se incluye también un control negativo (C–) en el que no se ha añadido DNA, para descartar contaminaciones, un control positivo (C+) que consiste en un caso que se sabe que es clonal y un marcador de pesos moleculares (M) que nos permitirá calcular el tamaño de las bandas observadas. *B*, análisis mediante electroforesis capilar y análisis de fragmentos fluorescentes. El caso 1, en el que se observan múltiples picos, corresponde a un caso policlonal y el caso 2, en el que se observa un único pico, es clonal.

Otra de las aplicaciones de los estudios de clonalidad linfoide es la de analizar la afectación de órganos en los que no suelen detectarse linfocitos en situaciones fisiológicas.

Finalmente cabe mencionar que los reordenamientos de inmunoglobulinas y RCT no son necesariamente marcadores de línea B y T, respectivamente. Se han descrito reordenamientos de RCT en casos de patologías de origen B, así como en algunas leucemias agudas de origen mieloide (LAM), y por otra parte, pueden observarse, aunque con menor frecuencia, reordenamientos de IgH en patologías de origen T y LAM[90].

Detección de clonalidad en síndromes mieloproliferativos crónicos

Los estudios de clonalidad mieloide se basan en el análisis del patrón de inactivación del cromosoma X. En las células de mujeres, sólo uno de los dos cromosomas X está activo, el otro se inactiva en fases muy primitivas de la embriogénesis. Esta inactivación se produce en cada célula al azar y se mantiene aunque la célula se transforme en neoplásica. Este proceso de inactivación también se conoce como lionización[96] y se produce por metilación de residuos de citosina. Se han estudiado diferentes locus del cromosoma X que presentan polimorfismos y que, por tanto, son útiles para estudiar la clonalidad. De éstos, el que ha demostrado ser más útil es el gen HUMARA (*human androgen receptor gene*) por presentar una heterocigosidad muy alta. Este gen presenta variaciones del número de copias del trinucleótido CAG fácilmente detectables por PCR.

El método de estudio de clonalidad se basa en la digestión del DNA con endonucleasas de restricción sensibles a metilación, que permitirán distinguir el alelo activo (cortado) del alelo inactivo (no cortado). Una vez los dos alelos han sido digeridos por las enzimas de restricción sensibles a la metilación, se amplifican los fragmentos obtenidos y se separan mediante electroforesis capilar o en un gel de acrilamida. El resultado es la aparición de diferentes patrones de bandas correspondientes a los cromosomas X inactivos (metilados), ya que los activos habrán sido digeridos. En el caso de una población policlonal, tanto el alelo paterno como el materno pueden estar inactivos y, por tanto, se detectarán dos picos mayoritarios. En el caso de una población clonal, sólo uno de los dos alelos estará inactivo (metilado) y, por tanto, se detectará un único pico (fig. 3.25).

Cabe destacar que los métodos basados en la detección de la inactivación por diferencias de metilación del DNA tienen algunas limitaciones: *a*) sólo se pueden aplicar en mujeres heterocigotas; *b*) es necesario un control riguroso de la técnica para excluir la digestión incompleta de DNA por las endonucleasas sensibles a la metilación, y c) no es posible estudiar clonalidad en las células anucleadas, como los reticulocitos y las plaquetas.

Estos estudios se aplican principalmente al diagnóstico de síndromes mieloproliferativos crónicos Philadelphia negativos[97-98].

Estudios de translocaciones

Las translocaciones cromosómicas más frecuentes en hematología, que se hallan listadas en las tablas 3.8 y 3.14, pueden ser de dos tipos: las que dan lugar a la formación de un gen de fusión entre dos genes (p. ej., BCR-ABL o PML-RARa) y las que producen una alteración (normalmente, aumento) en la expresión de un gen (p. ej., BCL2-IgH) (fig. 3.26). Las primeras se analizan mayoritariamente mediante el estudio del RNA, mientras que las segundas se estudian a partir de DNA.

Translocaciones resultantes en la aparición de genes híbridos o de fusión

Este tipo de translocaciones se caracteriza por la formación de un gen híbrido constituido por segmentos de los dos genes implicados en la translocación. Este gen de fusión dará lugar a una proteína quimérica, que podrá tener propiedades oncogénicas o bien perder la función reguladora del gen original. La rotura de los dos genes de línea germinal suele producirse por espacios intrónicos, y los puntos de rotura pueden ser variables y pueden producirse a lo largo de zonas de varias kilobases. Por este motivo, su detección a partir de DNA resulta poco práctica, y dificultosa desde el punto de vista técnico, por lo que es preferible realizar el estudio a partir de RNA, analizando la presencia del tránscrito del producto de fusión de los dos genes implicados.

TABLA 3.14

Alteraciones cromosómicas asociadas a leucemias agudas detectadas por técnicas de biología molecular

Alteración cromosómica	Gen de fusión	Patología	Material de estudio
t(1;19)(q23;p13)	E2A-PBX1	Leucemia aguda linfoblástica del adulto Leucemia aguda linfoblástica infantil	RNA
t(4;11)(q21;q23)	MLL-AF4	Leucemia aguda linfoblástica infantil y del adulto	RNA
t(12;21)(p13;q22)	TEL-AML1	Leucemia aguda linfoblástica infantil	RNA
t(9;22)(q34;q11)	BCR-ABL m-bcr	Leucemia aguda linfoblástica del adulto Leucemia aguda linfoblástica infantil	RNA
t(9;22)(q34;q11)	BCR-ABL M-bcr	Leucemia mieloide crónica Leucemia aguda linfoblástica del adulto	RNA
del(1)(p32)	SIL-TAL1	Leucemia aguda linfoblástica T infantil	RNA
t(15;17)(q22;q21)	PML-RARα	Leucemia aguda no linfoblástica M3	RNA
t(11;17)(q23;q21)	PLZF-RARα	Leucemia aguda no linfoblástica M3	RNA
Inv(16)(p13q22)	CBFB-MYH11	Leucemia aguda no linfoblástica M4 eo	RNA
t(8;21)(q22;q22)	AML1-ETO	Leucemia aguda no linfoblástica M2	RNA

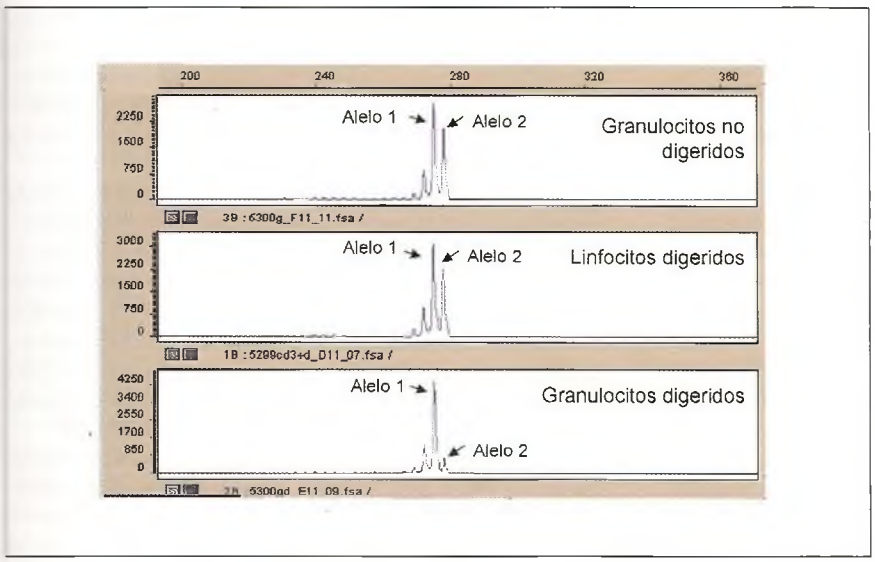


Figura 3.25. Detección de clonalidad mediante análisis de polimorfismos en el gen HUMARA. En la figura se muestra un ejemplo de un caso de un síndrome mieloproliferativo clonal, en el que se ha amplificado por PCR el DNA de granulocitos sin digerir con enzimas de restricción sensibles a la metilación y el DNA de linfocitos y granulocitos después de digerir con estas enzimas. En la muestra de granulocitos no digeridos se amplifican los dos alelos (correspondientes a los dos cromosomas: activo e inactivo). En los linfocitos digeridos también se observan los dos alelos ya que en estas células se inactivan aleatoriamente ambos cromosomas. En el tercer panel que corresponde a granulocitos digeridos se detecta mayoritariamente uno de los dos alelos, ya que al proceder todas las células de una misma célula, el cromosoma inactivo (metilado) coincide.

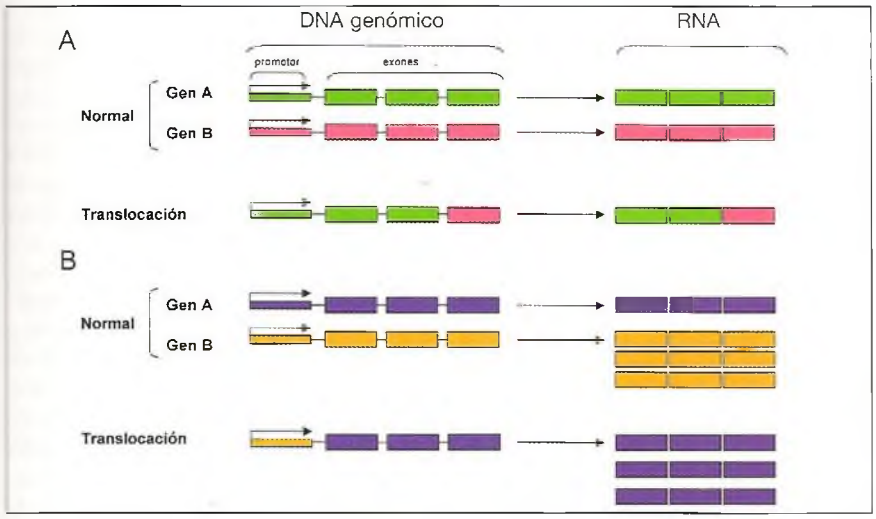


Figura 3.26. Representación del efecto de las translocaciones. *A*, representación esquemática de una translocación que produce un gen de fusión. *B*, representación esquemática de una translocación que produce un aumento en la expresión de un gen –disregulación génica– como consecuencia de que el gen A queda bajo el control de un promotor potente.

Estas translocaciones se estudian mayoritariamente mediante técnicas de amplificación a partir de RNA. Este proceso recibe el nombre de ensayo de transcripción reversa unido a la PCR o ensayo de retrotranscripción unido a PCR (RT-PCR). Previamente a la amplificación por PCR, el RNA es convertido en DNA complementario mediante la transcriptasa reversa, con la ayuda de cebadores oligo-dT (que se unirán a la cola de poliadeninas del RNA) o bien con cebadores de seis bases al azar (*random* hexámeros). Una vez se sintetiza el DNA complementario, se realiza una PCR con los cebadores específicos para el gen de fusión que se va a estudiar.

Las translocaciones que dan lugar a genes de fusión son frecuentes en las leucemias agudas (tabla 3.14), aunque también existen algunos casos de translocaciones que producen genes de fusión en la patología linfoide, como es el caso de la t(11;18)(q21;q21) característica de los linfomas MALT o la t(2;5)(p23;q35), de los linfomas anaplásicos de célula grande (tabla 3.8).

Translocaciones que provocan alteraciones en la expresión génica/disregulación génica

En estas translocaciones suelen estar implicadas las regiones reguladoras, los promotores del gen de las IgH que se encuentra en la banda q32 del cromosoma 14, o bien del receptor de células RCT delta en la banda q11 del cromosoma 14. Más raramente, se ven implicados los promotores de los genes de las cadenas ligeras kappa y lambda de las inmunoglobulinas (situados en 2p12 y 22q11, respectivamente), o de los RCT beta y gamma (situados en 7q35 y 7p15, respectivamente) (tabla 3.8).

Estos promotores están muy activos en las neoplasias linfoides, y producen una expresión anormalmente aumentada del gen que queda bajo su control.

El estudio de estas translocaciones se realiza normalmente mediante PCR a partir de DNA, aunque en el momento del diagnóstico la FISH es la técnica más recomendable, ya que detecta un mayor número de casos que la PCR, especialmente en algunas translocaciones como la t(11;14)(q13;q32) en el linfoma del manto que presenta puntos de rotura variables.

Detección de enfermedad mínima residual

La técnica de PCR junto con las técnicas de inmunofenotipo por citometría de flujo son las que presentan una mayor sensibilidad y, por tanto, son las técnicas de elección en la detección de enfermedad mínima residual (EMR), en la que el número de células patológicas es demasiado pequeño

como para poder ser detectadas en un estudio morfológico o citogenético.

En los estudios de EMR no sólo es importante la detección de células tumorales sino que, además, en algunas patologías también es importante cuantificar el número de las mismas.

La PCR convencional permite la detección de células tumorales, pero no su cuantificación. Las primeras técnicas de PCR cuantitativa consistían en una PCR competitiva que era laboriosa y de difícil estandarización, lo que dificultaba su utilización de forma rutinaria en los laboratorios clínicos. Actualmente, la cuantificación del número de células tumorales se realiza mediante la técnica de PCR cuantitativa en tiempo real. Esta técnica se basa en una reacción convencional de PCR en la que, además de los dos cebadores, se añade un componente fluorescente (ya sea un reactivo que emita fluorescencia al intercalarse en la doble cadena de DNA *[SybrGreen]* o bien oligonucleótidos específicos para el producto que se amplifica, sondas, marcados con fluorescencia-tecnología Taqman y FRET). En esta técnica, se utiliza un termociclador que realiza una lectura continua de la emisión de fluorescencia, lo que proporciona una información en tiempo real del proceso. La intensidad de la fluorescencia emitida depende de la cantidad de producto amplificado en la PCR, y éste, a su vez, depende de la cantidad inicial de DNA o DNAc diana. De esta forma, se puede establecer un ciclo umbral (Ct-*cycle threshold*) que corresponde al número de ciclos de PCR necesarios para poder detectar la fluorescencia. A partir de diluciones de cantidades conocidas del gen de interés, se elabora una curva patrón que relaciona la cantidad del gen con el ciclo umbral en el que se detecta, y que permite calcular el número de copias del gen presentes en la muestra analizada (fig. 3.27).

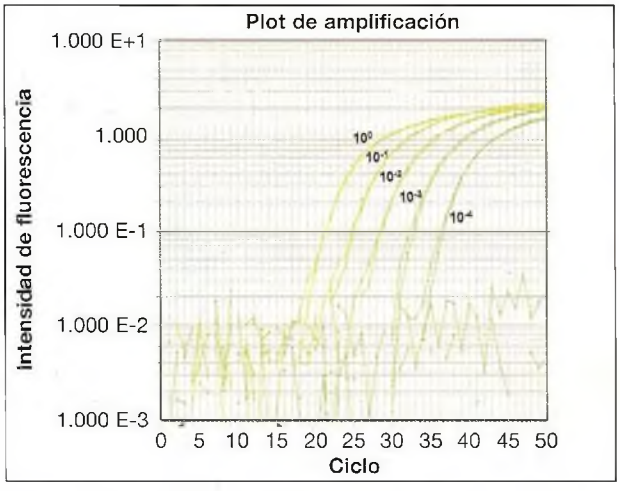


Figura 3.27. Análisis mediante RT-PCR en tiempo real de la presencia del transcrito BCR-ABL. En la imagen se muestran las gráficas de diluciones de la línea celular K562 que presenta la t(9:22)(q34:q11). Las gráficas se desplazan hacia la derecha (Ct mayor) en las muestras más diluidas.

La detección de EMR proporciona información pronóstica independiente en la estratificación terapéutica de diversos tipos de leucemias, como la LAL infantil, la LMC y la leucemia aguda promielocítica, por lo que se han desarrollado protocolos para estandarizar la detección de EMR en estas patologías mediante PCR en tiempo real. En el protocolo desarrollado en Europa por Gabert et al se han establecido los cebadores y las sondas que se deben utilizar para los diferentes productos de fusión que se desea detectar, así como los protocolos de retrotranscripción y cuantificación[99].

En el caso de patologías que carecen de translocaciones concretas, como algunas leucemias agudas linfoblásticas o síndromes linfoproliferativos crónicos, puede aplicarse el estudio de clonalidad para llevar a cabo la detección de EMR. Para alcanzar una sensibilidad suficiente, se secuencia el reordenamiento hallado en el momento del diagnóstico y se diseñan oligonucleótidos específicos de la región CDR3 (*allele-specific oligonucleotides*, ASO), que se utilizarán como cebadores o como sondas en la reacción de PCR.

Otra de las aplicaciones en el estudio de EMR son los estudios de quimerismo en aquellos enfermos en los que se realiza un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos. En estos enfermos interesa evaluar la ausencia o persistencia de células hematopoyéticas del paciente después del trasplante. Existe una gran variedad de técnicas de laboratorio para analizar el quimerismo postrasplante. Todas ellas se basan en la detección de marcadores genotípicos o fenotípicos que permiten distinguir las células hematopoyéticas del donante de las del receptor. Los marcadores genotípicos utilizados con mayor frecuencia son las secuencias de DNA repetitivo, que consisten en secuencias de nucleótidos que se repiten en tándem un número determinado de veces. Estas secuencias pueden ser: minisatélites (también conocidos como VNTR –*variable number of tandem repeat*–) o microsatélites (también conocidos como STR –*short tandem repeats*–). La diferencia entre ambas es el número de nucleótidos que se repiten. Los STR son secuencias de dos a cinco nucleótidos, mientras que los VNTR son más largos. Mediante PCR se amplifican estas zonas de DNA repetitivo. Con frecuencia, el tamaño del DNA amplificado es diferente en el donante que en el receptor[100-102]. Alternativamente, los estudios de quimerismo pueden hacerse mediante PCR cuantitativa en tiempo real, analizando secuencias específicas del cromosoma Y (siempre que el donante y el receptor no sean del mismo sexo) o SNP (*single nucleotide polymorphisms*)[103-104].

Microarrays

Recientemente, el desarrollo tecnológico, junto con la mejora de las herramientas informáticas, ha permitido la creación de plataformas que realizan el análisis simultáneo de hasta 40.000 genes de una misma muestra. Esta tecnología recibe el nombre de microarrays, biochips o matrices. Se puede aplicar al estudio de los niveles de expresión de genes, analizando el RNA mensajero de la muestra, pero también al estudio de alteraciones genómicas, básicamente ganancias y pérdidas, analizando el DNA genómico de la muestra de interés.

La tecnología se basa en inmovilizar sobre un soporte sólido: oligonucleótidos o secuencias de DNA complementario (DNAc) si se quieren analizar los niveles de expresión de genes, o secuencias genómicas insertadas en vectores (BAC, PAC) si se quieren analizar alteraciones en el DNA genómico.

El proceso consiste en marcar con un fluorocromo la muestra sometida a estudio, y con otro fluorocromo diferente

una segunda muestra con la que se quiere comparar la primera, y que será la referencia (frecuentemente suele ser tejido normal o un *pool* de líneas celulares). Ambas muestras se hibridan sobre el soporte sólido. Las señales de fluorescencia son captadas y analizadas mediante complejos programas informáticos. En el caso de los arrays de expresión, se obtiene información de la expresión diferencial (aumento o disminución) de la muestra de estudio respecto a la muestra de referencia, y se pueden establecer patrones de expresión de genes. En el caso de los arrays genómicos (array-CGH) se podrá obtener información más acotada sobre ganancias y pérdidas de material genético con una resolución de 0,5 a 1 Mb.

La tecnología de los microarrays se caracteriza por analizar un número muy elevado de genes en un número limitado de muestras, mientras que en los estudios tradicionales se analizaban pocas variables en un número muy elevado de muestras. La cuantificación simultánea de la expresión de miles de genes permite obtener una visión global de la actividad transcripcional del tumor y definir patrones de expresión génica (*gene expression profiling*). A diferencia de los estudios tradicionales, la complejidad asociada al análisis de un elevado número de datos es objeto de controversia.

Los microarrays se están aplicando a la práctica totalidad de las neoplasias hematológicas. Los resultados obtenidos hasta el momento han permitido establecer patrones de expresión génica relacionados con alteraciones moleculares y con el curso clínico. Se han podido diferenciar patologías en función del patrón de expresión génico, así como establecer subgrupos dentro de una misma patología[105,106].

Los estudios iniciales de Golub et al establecieron patrones de expresión génica que permitían diferenciar leucemias agudas mieloides de leucemias agudas linfoides, y, entre estas últimas, se podían diferenciar las de estirpe B de las de estirpe T[107].

Estudios posteriores de las leucemias agudas linfoides definieron patrones de expresión génica asociados con alteraciones moleculares específicas[105].

La aplicación de los microarrays a los linfomas difusos de células grandes (LDCG) permitió definir varios subgrupos en esta patología, que se caracteriza por ser muy heterogénea en el curso clínico y en la respuesta al tratamiento. Los patrones de expresión génica permitieron diferenciar dos subgrupos: uno, en el que el patrón de expresión génico era similar al de células B activadas, y un segundo grupo, con un perfil genético similar al de las células del centro germinal y que tenía mejor pronóstico[108,109].

La asociación de perfiles genéticos específicos con el pronóstico de los LDCG se ha utilizado para identificar grupos más reducidos de genes con relevancia clínica que puedan facilitar la implementación de los resultados de estos estudios en la predicción de la evolución clínica de los enfermos diagnosticados de esta patología[109,110].

Una de las limitaciones de esta tecnología es la dificultad de su aplicación en la rutina diagnóstica. El precio de la infraestructura y de los reactivos necesarios para llevarla a cabo, así como el complejo tratamiento estadístico necesario para identificar los genes relevantes, hacen que únicamente se pueda aplicar en el ámbito de la investigación.

Sin embargo, la información que está aportando probablemente mejorará el conocimiento de los mecanismos genéticos implicados en el desarrollo de muchas patologías hematológicas a las que se está aplicando en este momento DNA, así como nuevas herramientas que permitan el establecimiento de variables predictivas y pronósticas en las neoplasias hematológicas.

CONCLUSIONES

La aplicación rutinaria del estudio citogenético complementado con las técnicas de hibridación *in situ* y de biología molecular en las neoplasias hematológicas es importante, ya que aporta información complementaria a la de la citología, y permite el establecimiento de entidades clínico-citogenéticas.

A pesar de que la citogenética es la técnica menos novedosa, en el momento del diagnóstico es imprescindible en el estudio de las neoplasias hematológicas, por las implicaciones clínicas y terapéuticas que se derivan del resultado citogenético. En aquellos casos en los que el resultado de la citogenética convencional no sea informativo (cariotipo normal, alteración citogenética poco clara o ausencia de divisiones), la aplicación de las técnicas de FISH o de biología molecular orientadas por el diagnóstico citológico pueden ser de gran utilidad para definir el cambio genético de las células neoplásicas del paciente. Además, el conocimiento de nuevas alteraciones genéticas utilizando la citogenética convencional permitirá establecer nuevas entidades con unas características clínicas y citológicas bien definidas.

Un ejemplo de la necesidad de integrar las distintas tecnologías se expone en la tabla 3.15, en la cual se plasma el trabajo reciente realizado de forma consensuada por el Grupo Cooperativo Español de Citogenética Hematológica (GCECGH) y el Grupo de Biología Molecular en Hemopatías Malignas (GBMHM) de la Asociación Española de Hematología y Hemoterapia (AEHH). Esta tabla es una guía de recomendaciones para el diagnóstico genético y el seguimiento de las neoplasias hematológicas, que intenta unificar los criterios para la aplicación de las distintas técnicas genéticas de uso rutinario en los laboratorios de hematología, incluyendo la citogenética convencional, la hibridación *in situ* fluorescente (FISH) y la PCR, y el tipo de muestras que se debe utilizar para cada patología y en los distintos momentos de la evolución de la enfermedad.

Por otra parte, hemos asistido recientemente a la introducción de la metodología de los arrays, tanto los genómicos (array CGH) como los de expresión (microarrays de expresión), en el estudio de las neoplasias hematológicas. Estas tecnologías serán de gran utilidad para conocer con mayor exactitud los genes implicados en las hemopatías malignas. Estos avances permitirán establecer una mejor clasificación de las neoplasias hematológicas, y ello repercutirá en un tratamiento más dirigido en función del cambio genético que presente cada paciente. La aplicación de los estudios citogenéticos, de hibridación *in situ* y de perfiles de expresión en pacientes con neoplasias permitirá conocer la base genética de estas enfermedades y aportar datos fundamentales para el seguimiento clínico de los pacientes. Así, con la información obtenida de los estudios genéticos, el hematólogo estará en una situación más favorable para establecer el diagnóstico más preciso, aplicar el tratamiento más dirigido y realizar el seguimiento del paciente.

TABLA 3.15

Guía de recomendaciones para el diagnóstico genético y seguimiento de las neoplasias hematológicas

Patología	Fase	Muestra	Citogenética convencional	Hibridación *in situ* fluorescente (FISH)	Biología molecular (BM)
LEUCEMIA AGUDA					
Leucemia aguda mieloide (LAM)	Diagnóstico	MO	Sí, siempre	Sí, según subtipo y cariotipo inicial	Sí, según subtipo y cariotipo inicial (si CN. FLT3/WT1 opcional)
	Recidiva/ transformación	MO	Sí, siempre	Sí, según subtipo y cariotipo inicial	NP
LAM con t(8;21)	EMR	MO	NP	NP	AML/ETO
LAM con t(15;17)	EMR	MO	NP	NP	PML/RARA
LAM con inv(16)/t(16;16)	EMR	MO	NP	NP	CBF-B
LAM con 11q23 (MLL)	EMR	MO	NP	MLL	
LAM con anomalía al diagnóstico	EMR	MO	Sólo si no se dispone de sonda FISH, ni PCR	Sí, si se dispone de sonda	NP
LAM con cariotipo normal	EMR		NP	NP	Sólo si existe protocolo
Leucemia aguda linfoide (LAL)	Diagnóstico	MO	Sí, siempre	Si CN o SD: BCR/ABL, MLL, TEL/AML1*	Si CN o SD: BCR/ABL, MLL, TEL/AML1, VDJ*
	Recidiva/ transformación	MO	Sí, siempre	Según diagnóstico	Según diagnóstico
LAL-L3	Diagnóstico	MO/SP	Sí, siempre	Si CN o SD: c-MYC/IgH	NP
LAL pediátricas < 1 año	Diagnóstico	MO	Sí, siempre	Si CN o SD: ETV6/AML1, PBX1/E2A, AF4/MLL, BCR/ABL*	ETV6/AML1, PBX1/E2A, AF4/MLL, BCR/ABL*
	EMR	MO	NP	Según diagnóstico	Según diagnóstico
NEOPLASIAS MIELOIDES					
Síndromes mielodisplásicos (SMD)	Diagnóstico	MO	Sí, siempre	NP	NP
	Progresión	MO	Sí, siempre	NP	NP
Leucemia mieloide crónica (LMC)	Crónica	MO	Sí, siempre	Sí, siempre, descartar deleción 5'ABL	Sí, siempre
	Blástica	MO	Sí, siempre	NP	NP
	EMR	MO	Sí, siempre	NP	Sí, si CN, se recomienda SP para RC
Policitemia vera (PV)	Diagnóstico	MO	Sí, siempre	NP	JAK2/opcional PRV1
Trombocitemia esencial (TE)	Diagnóstico	MO	Sí, siempre	BCR/ABL*	BCR/ABL*/JAK2
Mielofibrosis idiopática (MI)	Diagnóstico	MO	Sí, siempre	NP	JAK2

Hipereosinofilia	Diagnóstico	MO	Sí, siempre
Otros SMPC	Diagnóstico	MO	Sí, siempre
NEOPLASIAS DE CÉLULAS B MADURAS			
Leucemia linfática crónica (LLC)	Diagnóstico	SP	Sí, siempre
	Progresión	SP	Sí, siempre
	EMR	SP	Sólo si existe anomalía al diagnóstico
Linfoma folicular (LF)	Diagnóstico	Ganglio > SP > MO	Sí, siempre
	Progresión	Ganglio > SP > MO	Sí, siempre
	EMR	SP > MO	NP
Linfoma del manto (LM)	Diagnóstico	Ganglio > SP > MO	Sí, siempre
	Progresión	Ganglio > SP > MO	Sí, siempre
	EMR	Ganglio > SP > MO	NP
Linfoma de Burkitt (LB)	Diagnóstico	Ganglio	Sí, siempre
	Progresión	Ganglio	Sí, siempre
Linfoma difuso células grandes (LDCG)	Diagnóstico	Ganglio > SP > MO	Sí, siempre
	Progresión	Ganglio > SP > MO	Sí, siempre
Linfoma zona marginal (LZM) Primario esplénico	Diagnóstico	Bazo > SP > MO	Sí, siempre
	Progresión	SP > MO	Sí, siempre
Linfoma zona marginal (LZM) Primario nodal	Diagnóstico	Ganglio > SP > MO	Sí, siempre
	Progresión	Ganglio > SP >MO	Sí, siempre

PDGFRa/FIP1L1 (CHIC 2)*	PDGFRa/FIP1L1*
	Sí, si reordenamiento conocido
Sí, siempre: CEP12, ATM, D13S319/S25 y p53	Opcional mutaciones IgH
Sí, ATM y p53	NP
Sí, si se dispone de sonda	NP
Sí CN o SD, BCL2/IgH	Sí, BCL2/IgH
NP	NP
Sí, BCL2/IgH si PCR negativa*	Sí, BCL2/IgH*
Si CN o SD, BCL1/IgH	BCL1/IgH
NP	NP
Sí, BCL1/IgH si PCR negativa*	Sí, BCL1/IgH si PCR positiva al diagnóstico*
Si CN o SD, c-MYC/IgH	NP
NP	NP
Opcional si CN o SD: BCL2, BCL6 y c-MYC	NP
NP	NP
Opcional si CN o SD: CEP3	NP
NP	NP
Opcional si CN o SD: CEP3, MALT1	NP
NP	NP

(*Continúa*)

TABLA 3.15

Guía de recomendaciones para el diagnóstico genético y seguimiento de las neoplasias hematológicas (*Cont.*)

Patología	Fase	Muestra	Citogenética convencional	Hibridación *in situ* fluorescente (FISH)	Biología molecular (BM)
Linfoma zona marginal (LZM) Extranodal tipo MALT	Diagnóstico	Tejido MALT > MO > SP	Sí, siempre	MALT1, CEP3*	API2/MALT1*
	Progresión	Tejido MALT > MO > SP	Sí, siempre	NP	NP
Gammapatía monoclonal origen incierto (GMSI)	Diagnóstico	MO	NP	NP	NP
Mieloma múltiple (MM)	Diagnóstico	MO	Siempre, si > 10% CP	Sí, siempre: 13q14, IgH Split, p53	NP
	Progresión	MO	Siempre, si > 10% CP	NP	NP
Leucemia células plasmáticas (LCP)	Diagnóstico	MO/SP	Sí, siempre	Sí, siempre: 13q14, IgH Split	NP
Linfoma linfoplasmocítico	Diagnóstico	G > SP > MO	Sí, siempre	No disponible	No disponible
NEOPLASIAS DE CÉLULAS T					
Linfoma anaplásico difuso células grandes (LADCG) CD30+	Diagnóstico	Ganglio	Sí, siempre	Sí, siempre si CN o SD: ALK	NP
Leucemia prolinfocítica T (LPL-T)	Diagnóstico	SP	Sí, siempre	NP	Opcional TCR
Leucemia linfocítica gran granular (LLGG)	Diagnóstico	SP	Sí, siempre	NP	Opcional TCR
Micosis fungoide (MF)/ síndrome Sézary (SS)	Diagnóstico	SP (Si > 5% CS) Ganglio	Sí, siempre	NP	Opcional TCR
OTROS					
Aplasia medular	Diagnóstico	MO	Sí, siempre	NP	NP
		SP	Sí, siempre con DEB/mitomicina	NP	NP
Anemia Fanconi	Diagnóstico	SP	Sí, siempre con DEB/mitomicina	NP	NP

CN: citogenética normal; SD: sin divisiones; NP: no procede; CP: células plasmáticas; CS: células Sézary.
*Sólo es preciso realizar una de las dos técnicas (FISH o biología molecular).
Criterio general de control de enfermedad residual en cualquier neoplasia con alteración cromosómica: si es posible FISH o biología molecular, si no citogenética convencional.
EMR: enfermedad mínima residual.

CAPÍTULO 4

Introducción al estudio de la patología eritrocitaria

J. L. Vives Corrons

ÍNDICE

El sistema eritroide o eritrona
Eritrocitos
Membrana eritrocitaria
Lípidos
Proteínas
Hemoglobina
Estructura
Funciones
Biosíntesis
Enzimas del metabolismo
Eritropoyesis
Progenitores eritroides
Precursores eritroides
Control de la eritropoyesis
Envejecimiento y muerte del eritrocito
Bibliografía

EL SISTEMA ERITROIDE O ERITRONA

La *serie eritrocitaria*, conocida también como serie roja, se halla estructurada en una unidad funcional llamada *eritrona*, constituida por células que se localizan en dos compartimentos: uno central o médula ósea (progenitores y precursores eritropoyéticos) y otro periférico o sangre (eritrocitos). El estudio de las anemias y poliglobulias sólo puede abordarse si se tiene siempre en cuenta que la eritrona es una unidad funcional cuyo correcto funcionamiento depende del equilibrio entre la formación de eritrocitos por la medula ósea (*eritropoyesis*) y su eliminación por los macrófagos (*hemólisis fisiológica*). La patología eritrocitaria es, por tanto, una consecuencia de la pérdida de este equilibrio, y su estudio exige, ante todo, conocer la estructura y función de los eritrocitos, como los mecanismos que intervienen en su proceso de maduración y hemólisis fisiológica. Por tanto, estos conocimientos son imprescindibles para comprender el mecanismo fisiopatológico de las anemias y las poliglobulias.

El *eritrocito* (ερι τροσ = rojo) tiene la importante misión de proteger y transportar la hemoglobina, pigmento respiratorio del organismo. Cada milímetro cúbico (mm^3) o microlitro (μL) de sangre contiene unos cinco millones de eritrocitos que, gracias a su elevada capacidad para deformarse (deformabilidad), pueden atravesar los territorios capilares y garantizar la llegada del oxígeno a todos los rincones del organismo. El ser humano adulto normal posee una masa eritrocitaria de, aproximadamente, 2 litros, equivalentes a unos 750 g de hemoglobina. Diariamente, alrededor del 1% de esta masa eritrocitaria es eliminada por las células del sistema macrofágico o macrófagos mediante un proceso de envejecimiento natural (hemólisis fisiológica), pero, al mismo tiempo, es restituida por la regeneración eritropoyética medular (eritropoyesis). Así, aunque el número de precursores eritroides presentes en la médula ósea es inferior a una décima parte de la masa eritrocitaria, bajo el influjo de una estricta regulación humoral y celular, la regeneración diaria de eritrocitos restituye por completo tanto los que se pierden por envejecimiento natural como por apoptosis fisiológica de los propios precursores. La producción eficaz de eritrocitos viene garantizada, a su vez, por un suministro normal de oxí-

geno, y su supervivencia en la circulación, por el propio sistema vascular o circulatorio. La variabilidad de la producción de eritrocitos entre los dos sexos se atribuye al diferente efecto androgénico sobre la eritropoyesis, y la anemia fisiológica de la infancia se ha relacionado con el menor tamaño y el distinto comportamiento metabólico de los eritrocitos durante este período del crecimiento. Igualmente, a partir de los 70 años existe una disminución progresiva de la eritropoyesis debido al descenso del efecto androgénico y a la menor secreción de eritropoyetina renal en la vejez[1].

Al igual que cualquier otra célula de la sangre, los eritrocitos tienen su origen en una única célula madre pluripotente o progenitora, presente en la médula ósea, a través de un proceso de regeneración, diferenciación y maduración (eritropoyesis) en el que interviene una hormona denominada eritropoyetina (Epo). Después de abandonar la médula ósea, el eritrocito sobrevive en la circulación unos 120 días (alrededor de cuatro meses), tiempo durante el cual recorre alrededor de 600 km de territorio vascular, se ve sometido unas 500.000 veces a las turbulencias cardíacas y debe atravesar un elevado número de veces el filtro esplénico, constituido por espacios intercelulares de diámetro diez veces inferior al suyo. Esto sólo es posible gracias a su elevada capacidad para deformarse o deformabilidad, propiedad que va perdiendo progresivamente al envejecer, hasta que, finalmente, es eliminado de la circulación por los macrófagos del bazo y de la médula ósea. La capacidad eritropoyética de la médula ósea puede evaluarse fácilmente mediante la determinación del llamado índice de producción reticulocitaria (IPR). Para calcular el IPR, el valor del recuento de reticulocitos en porcentaje (%) debe corregirse para el grado de anemia (hematocrito) y el efecto de la estimulación eritropoyética sobre los reticulocitos. En una persona normal, el IPR es 1, pero en condiciones de hipoxia o anemia, la médula es capaz de aumentar varias veces la producción de eritrocitos (IPR > 3). Esta capacidad regenerativa constituye la forma que tiene el organismo para adaptarse a un descenso de la concentración de hemoglobina, de forma que, cuando no se produce, es porque existe un trastorno de la médula ósea. Así, la valoración de esta capacidad regenerativa es un criterio muy útil para el diagnóstico diferencial entre anemias de origen central o «arregenerativas» y las de origen periférico o «regenerativas». Las primeras obedecen a un trastorno en la formación de los eritrocitos, y su origen se sitúa en un defecto de los progenitores o de los precursores eritropoyéticos. En este tipo de anemias, el IPR es prácticamente siempre inferior a 1. Las anemias regenerativas obedecen a la pérdida periférica de eritrocitos por salida al exterior (hemorragia) o eliminación precoz por el SMF (hemólisis). En ambos casos, el IPR es prácticamente siempre superior a 2. Finalmente, cuando se analiza la capacidad de la eritrona normal para responder al estímulo eritropoyético deben considerarse los siguientes aspectos: 1) en caso de anemia aguda o hipoxia, la regeneración eritroide no es perceptible hasta pasados dos o tres días, y el aumento del IPR hasta después de cinco o seis; 2) la magnitud de la respuesta medular depende de la intensidad de la anemia. Las anemias leves (Hb < 110 g/L) suelen compensarse mediante un cambio adaptativo de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, por lo que suelen presentar una respuesta medular evidente (reacción eritroblástica). En las anemias moderadas (Hb: 110-100 g/L) el valor de la eritropoyesis puede ser doble o algo más del normal, mientras que en las anemias intensas (Hb < 100 g/L), puede llegar a ser de hasta ocho veces, y 3) un factor decisivo en la intensidad de la respuesta eritropoyética frente a la hipoxia es el nivel de hierro en el organismo. Así, en caso de ferropenia, la respuesta eritropoyética será siempre inferior a la que puede observarse en una situación con hierro normal.

Por tanto, si la patología eritrocitaria es una consecuencia de una alteración de la eritrona, el estudio de sus mecanismos fisiopatológicos y expresividad clínica requiere conocer las bases que regulan la eritropoyesis, la síntesis de hemoglobina y el mantenimiento de la viabilidad de los eritrocitos en la circulación.

ERITROCITOS

Una de las funciones primordiales de la sangre es la oxigenación de los tejidos, para lo cual posee la hemoglobina que, vehiculizada por los eritrocitos, transporta el oxígeno desde los pulmones a los tejidos. Debido a su elevada especialización, en el eritrocito el núcleo y las estructuras citoplasmáticas, propias de toda célula, han sido reemplazadas por hemoglobina y una pequeña dotación enzimática, imprescindible para mantener un reducido metabolismo celular. Cabe destacar que, aunque la hemoglobina intraeritrocitaria se halla a una concentración relativamente elevada (alrededor de 320 g/L), mantiene un estado de gran fluidez, imprescindible para garantizar la deformabilidad celular. Hemoglobina y enzimas se hallan separadas del plasma por una membrana cuyas propiedades fisicoquímicas peculiares confieren al eritrocito en reposo su característica forma en disco bicóncavo. En esta condición, los eritrocitos presentan una forma redondeada y uniforme, con una delgadez central que corresponde al área en que convergen las dos concavidades (fig. 4.1). Esta forma, propia del estado de reposo, coexiste con un número variable (12-18%) de formas unicóncavas o estomatocíticas, sólo apreciables mediante el microscopio electrónico de barrido, ya que cuando se practica una extensión de sangre convencional, los eritrocitos quedan aplastados sobre

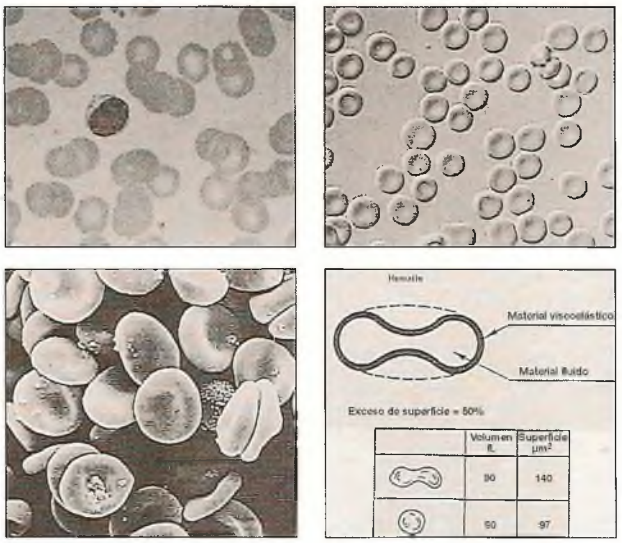


Figura 4.1. Aspectos morfológicos de los eritrocitos. *Arriba izquierda*: extensión de sangre teñida. *Arriba derecha*: examen en fresco (fijación en glutaraldehído). *Abajo izquierda*: microscopio electrónico de barrido (MEB). *Abajo derecha*: dimensiones del eritrocito normal.

la superficie del portaobjetos[2]. Por ello, lo que realmente se observa al realizar la morfología eritrocitaria mediante el microscopio óptico convencional son células aplanadas, cuya apariencia nada tiene que ver con la realidad de su forma *in vivo*. Estructuralmente, el eritrocito consta de membrana, hemoglobina y enzimas.

Membrana eritrocitaria

La membrana es responsable de la característica forma discoide del eritrocito, y contribuye decisivamente a mantener su deformabilidad y elasticidad. Al igual que cualquier otra membrana biológica, está constituida por lípidos, proteínas e hidratos de carbono. Siguiendo el modelo del mosaico fluido propio de toda membrana celular[3,4], los lípidos forman una doble capa en la que se hallan total o parcialmente sumergidas diversas proteínas denominadas integrales cuya superficie interna se halla recubierta por una estructura fibrilar de proteínas denominada esqueleto (fig. 4.2). Las proteínas del esqueleto carecen de contacto directo con el componente lipídico de la membrana, y su unión a la doble capa se establece siempre por medio de las proteínas integrales. La interacción entre lípidos, proteínas integrales y proteínas del esqueleto condiciona la característica forma bicóncava del eritrocito, que pone de relieve la existencia de un exceso de superficie (S) en relación al volumen (V). Gracias a ello los eritrocitos poseen una elevada capacidad para deformarse en la circulación o deformabilidad, propiedad fundamental, ya que les permite atravesar espacios de diámetro muy inferior al suyo propio. Un eritrocito normal es capaz de atravesar espacios virtuales diez veces más pequeños que su propio diámetro, como sucede, por ejemplo, en la pulpa del bazo (filtro esplénico). Esta propiedad física es tan importante que si no fuera por ella la supervivencia de los eritrocitos en la circulación sería imposible. De hecho, cualquier trastorno capaz de disminuir la deformabilidad suele comprometer en mayor o menor grado esta supervivencia y ser causa de hemólisis[5].

Lípidos

Constituyen alrededor del 40% del peso en seco de la membrana, y están formados, principalmente, por fosfolípidos y colesterol no esterificado y, en mucha menor proporción, por ácidos grasos libres y glucolípidos (tabla 4.1). Los fosfolípidos se disponen en doble capa, de forma que los grupos polares quedan expuestos al exterior, y los apolares se unen entre sí mediante fuertes enlaces hidrófobos. Los fosfolípidos de colina se concentran en la capa externa, mientras que los aminofosfolípidos y el fosfatidil inositol predominan en la capa interna. Esta estructura es extraordinariamente fluida gracias al carácter insaturado de los ácidos grasos que forman parte de los fosfolípidos, y a la disposición asimétrica de las proteínas incluidas parcial o totalmente en el espesor de la doble capa lipídica. El colesterol, por contra, está en una proporción similar a ambos lados de la bicapa lipídica y, cuando el eritrocito experimenta una compresión, se mueve con mucha rapidez para anular las diferencias de presión. Los glicolípidos están concentrados en la capa externa, y transportan determinantes antigénicos que

TABLA 4.1

Lípidos de la membrana eritrocitaria

FOSFOLÍPIDOS	4,2 μmol/10^{10} Ers
1. Fosfatidilcolina (lecitina)	26-30%
2. Fosfatidiletanolamina (cefalina)	27-29%
3. Esfingomielina	25-27%
4. Fosfatidilserina	1-2%
5. Lisolecitina y otros	2-3%
COLESTEROL	4,0 μmol/10^{10} Ers
GLUCOLÍPIDOS	0,3 μmol/10^{10} Ers
ÁCIDOS GRASOS LIBRES	0,1 μmol/10^{10} Ers

Ers: eritrocitos.

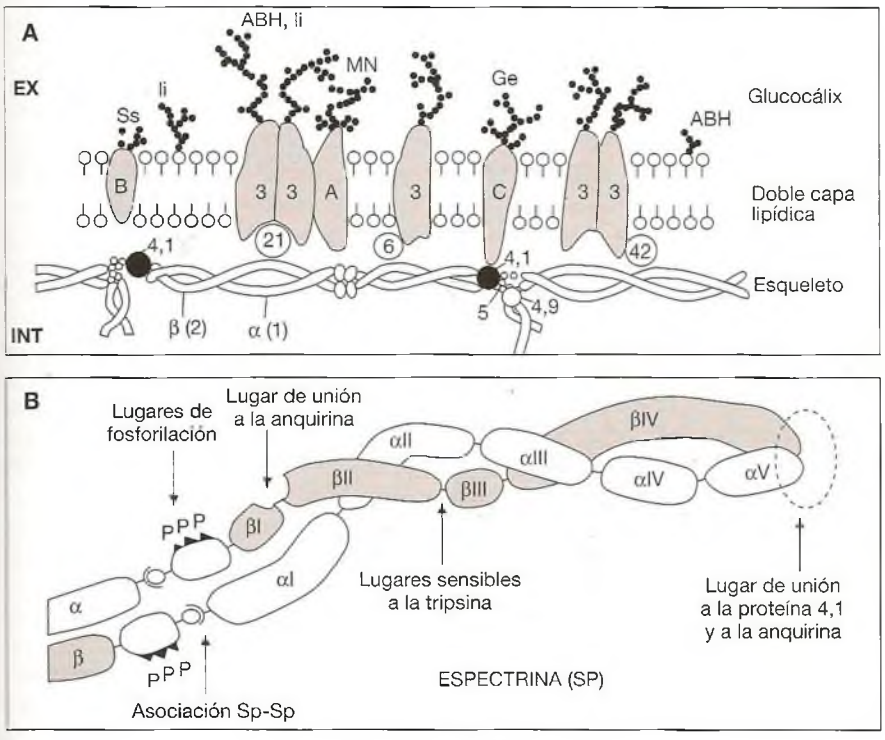


Figura 4.2. *A*, esquema de la estructura de la membrana eritrocitaria y disposición de la red bidimensional formada por moléculas de espectrina unidas entre sí y a otras proteínas del esqueleto (4,1; 4,2; 5; 9, etc.). EX: superficie externa; INT: superficie interna. *B*, esquema de la estructura de la molécula de espectrina con sus diferentes fragmentos funcionales y zonas de unión a las restantes proteínas del esqueleto.

definen grupos sanguíneos, típicamente los grupos A, B, H, Le^a, Le^b y P. En condiciones fisiológicas, la bicapa lipídica está en estado líquido, lo que permite que las proteínas transmembranosas, los antígenos y otras moléculas de superficie se muevan en el plano de la bicapa. Un exceso de colesterol disminuye la fluidez de la membrana, con formación de acantocitos, como en la abetalipoproteinemia y en la anemia de *spur-cells*. En la enfermedad hepática y en el déficit familiar de la enzima lecitina colesterol aciltransferasa (LCAT), la incorporación de lípidos aumenta la superficie de la membrana y da origen a las células en diana o codocitos[6].

Proteínas

Constituyen, aproximadamente, el 52% del peso en seco de la membrana, y pueden hallarse total o parcialmente sumergidas en la doble capa lipídica (proteínas integrales) o fuera de ella (proteínas periféricas). Las proteínas periféricas de mayor importancia en patología son las que pertenecen al esqueleto de la membrana eritrocitaria y algunas integrales. Existen también otras proteínas periféricas no pertenecientes al esqueleto la mayoría de las cuales son enzimas como las protein cinasas, que intervienen en la fosforilación de proteínas del esqueleto (espectrina y proteína 4,1), las hidrolasas y otras enzimas orientadas hacia el exterior de la superficie eritrocitaria, como la acetilcolinesterasa (AchE), una proteína unida a la membrana mediante un grupo glucosil-fosfatidilinositol (GFI). La AchE se halla disminuida en una enfermedad adquirida de la célula madre pluripotente conocida como hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN). Otras proteínas periféricas constituyen enzimas del metabolismo energético, como la gliceraldehído 3 fosfato-deshidrogenasa (GA3PD) o banda 6, y la fosfogliceratocinasa (PGK).

Esqueleto de la membrana eritrocitaria

El esqueleto de la membrana eritrocitaria está formado por largos filamentos de α y β-espectrina, dispuestos en una red de estructura hexagonal y con conglomerados de proteínas o nudos de unión en el centro y en los vértices. Esta estructura establece dos interacciones básicas (zonas de anclaje o unión) con la doble capa lipídica en las proteínas integrales banda 3 y glicoforina C (GPC): 1) unión β-espectrina-anquirina-banda 3 con soporte de la proteína 4,2, y 2) unión proteína 4,1-nudo proteico-glicoforina C, con soporte de la proteína p55 (fig. 4.3). El esqueleto de la membrana recubre por completo la superficie interna de la doble capa lipídica, en íntimo contacto con la hemoglobina, y se halla fuertemente fijada a ella por los puntos de unión antes citados. A diferencia de las proteínas integrales, las proteínas del esqueleto presentan gran diversidad estructural, pero su núcleo básico lo constituyen la espectrina (bandas 1 y 2) y la actina (banda 5). Las restantes proteínas establecen con ellas diferentes interacciones, contribuyendo con ello a mantener la estabilidad del conjunto. Entre estas proteínas destacan la anquirina[7] (banda 2,1), proteínas 4,1 y 4,2 (palidina), proteína 4,9 (desmatina), aducina, miosina, tropomiosina y tropomodulina[7].

Uno de los procedimientos más empleados para el estudio de las proteínas de membrana es la electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) previo tratamiento con dodecilsulfato sódico (SDS)[8]. El SDS homogeneiza la carga eléctrica de las proteínas y hace que éstas se separen en función de su diferente peso molecular (fig. 4.4). Ello ha permitido establecer una clasificación numérica creciente (banda 1, 2, etc.) de las proteínas de membrana desde las de mayor a menor peso molecular (tabla 4.2).

Espectrina (Sp). Es la proteína más abundante de la membrana eritrocitaria. Está formada por un dímero de dos subunidades, α y β entrelazadas en espiral alrededor de un eje común y orientadas de forma antiparalela. La subunidad α-Sp corresponde a la banda 1, y es codificada por un gen situado en el cromosoma 1 (SPTA1), la subunidad β-Sp corresponde a la banda 2, y es codificada por un gen situado en el cromosoma 14 (SPTB). Mediante la interacción del aminoácido terminal NH_2 de la cadena α con el aminoácido terminal COOH de la cadena β, los dímeros se unen entre ellos para formar tetrámeros $(\alpha\beta)_2$, y su interconversión (dímero-tetrámero) está regulada por un equilibrio termodinámico que, en condiciones fisiológicas, favorece la formación de tetrámeros. Los extremos de los dímeros se unen a pequeños filamentos de actina de forma que cada seis unidades de espectrina se unen a un oligómero de actina, formando una red irregular de estructura aproximadamente hexagonal. Cada unión espectrina-actina resulta estabilizada por la proteína 4,1 y reforzada por la tropomiosina y la aducina, proteínas que forman un complejo ternario o nudo proteico conocido como *junctional complex* (fig. 4.3). Las cadenas de

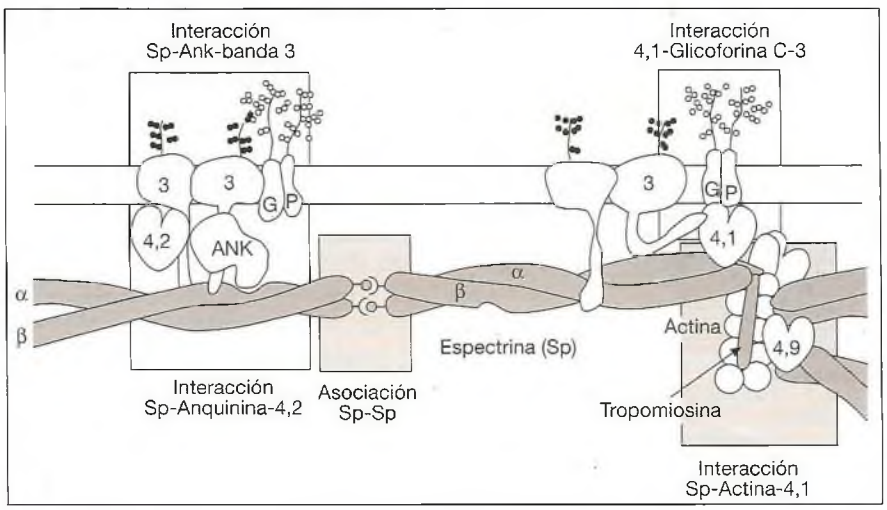


Figura 4.3. Esquema de las uniones funcionales entre proteínas del esqueleto y bicapa lipídica: a) uniones verticales: Sp-Ank-banda 3 y 4,1-Glicoforina C-banda 3; b) uniones horizontales: Sp-Sp y Sp-Actina-4,1. Obsérvese la formación de la estructura multiproteica conocida como «junctional complex» en la que participan la espectrina, actina, proteína 4,1, proteína 4,9 y tropomiosina.

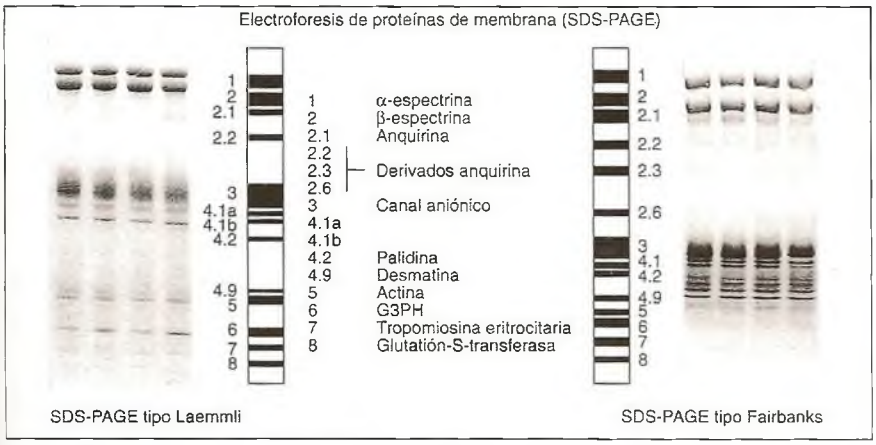


Figura 4.4. Electroforesis de proteínas de membrana eritrocitaria mediante gel de poliacrilamida (SDS-PAGE).

TABLA 4.2

Identificación de las glicoforinas mediante electroforesis de poliacrilamida (SDS-PAGE)

Banda	Tipo de glicoforina	Antígeno de grupo	Nomenclatura o denominación	Cromosoma
PAS-1	GLICOFORINA A	MN	GPA (GYPA)	4q28-q31
PAS-2	GLICOFORINA B	Ss	GPB (GYPB)	2q14-q21
PAS-3	GLICOFORINA C	Gerbich	GPC (GYPC)	4q28-q31
PAS-4	GLICOFORINA D	Componente D	GPD (GYPD)	4q28-q31

espectrina están formadas esencialmente por segmentos repetitivos de 106 aminoácidos: la cadena α tiene 20 segmentos homólogos y 2 no homólogos (α1 a α22); la cadena β tiene 17 segmentos homólogos (β1 a β17). El segmento de repetición β15 y la parte inicial del β16 están modificados para formar el lugar de unión de la anquirina. La unión β-espectrina-anquirina-proteína 4,2, que, a su vez, se une al dominio citoplasmático de la banda 3, forma el principal punto de unión del esqueleto a la bicapa lipídica (interacción vertical) (fig. 4.3), y cuando se altera, la unión se desestabiliza y la membrana eritrocitaria experimenta un proceso de vesiculación, con formación de esferocitos. La interacción β-espectrina-actina-proteína 4,1 con la glicoforina C (GPC) constituye el segundo punto de unión del esqueleto a la bicapa lipídica, y pese a su importancia, hasta el momento no se han descrito alteraciones genéticas que produzcan su desestabilización. Las mutaciones en los genes de las cadenas de la α-espectrina (SPTA1) y de la β-espectrina (SPTB), en las secuencias que codifican para los lugares de unión entre heterodímeros, causan la eliptocitosis congénita (EC) y la piropoiquilocitosis hereditaria (PPH). La intensidad del cuadro clínico depende de la cantidad de espectrina mutada que es incorporada al esqueleto, y de la disfunción de la proteína mutada, de modo que cuanto más próxima esté la mutación del lugar de unión de los dímeros, más grave será el fenotipo. La síntesis de cadenas de α-espectrina es de 3 a 4 veces mayor que la de las cadenas β-espectrina, y su ritmo de degradación es menor, por lo que el carácter heterocigoto para un alelo SPTA1 mutado, en la mayoría de los casos, carece de manifestación fenotípica[9].

Actina o banda 5. Forma parte del núcleo proteico, y está organizada en pequeños filamentos en doble hélice, estabilizados por sus interacciones con la espectrina, aducina, proteína 4,1, tropomiosina y tropomodulina. La unión de la espectrina a la bicapa es imposible sin la presencia de la proteína 4,1, y aunque la actina es el estabilizador del nudo proteico, existen un grupo de proteínas que contribuyen a reforzarlo. Entre ellas, destacan la aducina, un heterodímero, formado por dos cadenas estructuralmente similares que se une a la espectrina y a la actina, promoviendo la asociación de ambas proteínas, la desmantina (proteína 4,9) que une los filamentos de actina agrupándolos, la tropomiosina, que interacciona con la actina, y la tropomodulina, que asociada a la actina interacciona con la tropomiosina en los residuos terminales NH_2. La miosina está formada por dos cadenas ligeras y una pesada, tiene actividad ATPasa y se une a la actina y, posiblemente, también a la proteína 4,1[9].

Anquirina o banda 2,1. Es codificada por un gen situado en el cromosoma 8 (ANK1), y posee 42 exones y una región promotora. Tiene tres dominios funcionales: 1) un dominio con carga positiva formado por 23 segmentos de 33 aminoácidos, con locus de unión para la banda 3 y para otras proteínas integrales; 2) un dominio neutro, donde la anquirina se une a la β-espectrina, y 3) un dominio regulador que modula la interacción de la anquirina con la espectrina y con la banda 3. Este segmento tiene varias isoformas de función desconocida y resultado del *splicing* alternativo del mRNA ANK1. La fosforilación de la anquirina también funciona como mecanismo regulador: la anquirina no fosforilada se une preferentemente a los tetrámeros y oligómeros de espectrina, en detrimento de los dímeros, y la fosforilada disminuye la capacidad para unirse a la banda 3. Las mutaciones en el gen ANK1 provocan esferocitosis hereditaria (EH) autosómica dominante o recesiva. En las formas de EH dominante, se encuentran mutaciones con formación de codones *stop* o *frameshifts*; y en las formas de EH recesiva predominan las

mutaciones *missense* y mutaciones en la región promotora del gen, en particular la mutación T → C en el nucleótido −108 a 5´ del locus de inicio de la traducción. La anquirina eritroide también se expresa en las células de Purkinje del cerebelo, y se han observado alteraciones neurológicas en ratones con déficit de anquirina.

Proteína 4,1. Es codificada por el gen EPB41 y presenta una gran variedad de isoformas, resultantes de *splicings* alternativos, con especificidad de tejido y del estado de maduración celular. En el eritrocito, presenta dos isoformas fácilmente fraccionables mediante electroforesis de poliacrilamida (SDS-PAGE): proteína 4,1a y 4,1b. La 4,1b predomina en los reticulocitos, y la la 4,1a deriva de la 4,1b por desamidación gradual del aminoácido Asn502. Estructuralmente, posee cuatro dominios. El primero está implicado en unión a la GPC, reforzada por la proteína p55; el segundo, en la unión con la GPA y banda 3, y el tercero en la unión con la β-espectrina, que, a su vez, contribuye a reforzar la unión espectrina-actina. Al parecer, la proteína 4,1 se une también a la actina formando un complejo espectrina-actina-proteína 4,1. El déficit de proteína 4,1 produce inestabilidad de la membrana y es causa de eliptocitosis congénita (EC).

Proteína 4,2 (CD47). Es codificada por un gen situado en el cromosoma 15 (ELB42). Estructuralmente, presenta gran analogía con las proteínas de la familia de las transglutaminasas, como el factor XIII de la coagulación, pero carece de actividad enzimática. Existe bajo cuatro isoformas diferentes resultado del *splicing* alternativo en la región correspondiente al terminal NH_2. Normalmente, se halla unida a varias proteínas, en particular con la banda 3 y la anquirina. Su unión a la banda 3 contribuye a la oligomerización de ésta y, probablemente, también a su función transportadora de aniones. El déficit total de proteína 4,2 es una causa de EH recesiva[10].

Proteína p55. Interacciona con la proteína 4,1 y la región citoplasmática de la GPC, estableciendo un punto de unión entre las dos proteínas. Los eritrocitos sin proteína 4,1 o sin GPC carecen de proteína p55.

Proteínas integrales

Forman parte estructural de la doble capa lipídica, a la que se unen mediante fuertes enlaces de carácter apolar. Debido a ello, este tipo de proteínas se halla total o parcialmente incluido en el espesor de la bicapa lipídica, de forma que muchas de ellas pueden desplazarse libremente a lo largo y ancho de la misma, confiriéndole gran fluidez. La gran mayoría son glucoproteínas cuya estructura hidrocarbonada contiene casi siempre ácido siálico (sialoglicoproteínas) y que se exterioriza hacia la superficie externa del eritrocito formando el llamado glicocálix (fig. 4.3). Estructuralmente, poseen tres dominios: uno, extracelular, que es un receptor glicosilado con los determinantes antigénicos de los grupos sanguíneos; otro, intramembranal, muy hidrofóbico, que interactúa con los fosfolípidos de la bicapa, y otro, citoplasmático, que es el lugar de unión de las proteínas periféricas. Las principales proteínas integrales de la membrana del eritrocito son la banda 3 y las glicoforinas A, B, C y D. Existen muchas otras proteínas integrales que penetran o atraviesan la membrana, principalmente las proteínas del sistema Rh, Kell y Duffy, proteínas del complemento (C3b y C4b) y proteínas que sirven de transportadores y de receptores.

Banda 3. Conocida también como canal aniónico o *anion exchange* (AE1), forma parte de una familia de proteínas (AE) multigénica cuyos dominios intramembranosos participan en el intercambio de iones. Es la proteína integral de mayor tamaño, con cerca de 1,2 millones de copias por célula, lo que representa el 20-30% de las proteínas de la membrana. Es codificada por un gen situado en el cromosoma 17 (EPB3) y tiene dos funciones principales: unir la membrana del esqueleto a la capa lipídica, y transportar iones entre el interior y el exterior del eritrocito[11]. Realiza sus funciones a través de tres dominios:

1. El dominio citoplasmático (residuos 1-403) tiene una o más áreas de unión a la anquirina, proteína 4,1 y proteína 4,2. La hemoglobina, los hemicromos (hemoglobina parcialmente desnaturalizada) y las enzimas glicolíticas G3PD, PGK y aldolasa se unen al extremo NH_2 terminal. La unión de estas enzimas glicolíticas a la banda 3 ejerce un efecto inhibidor, lo que demuestra la intervención de la banda 3 en la regulación del metabolismo eritrocitario. Los hemicromos, al entrar en contacto con la banda 3, se polimerizan, contribuyendo con ello al envejecimiento y muerte del eritrocito[12].
2. El dominio intramembranar (residuos 404-882), con 14 invaginaciones serpenteando en el espesor de la bicapa lipídica, constituye el llamado canal aniónico, imprescindible para el intercambio iónico entre ambos lados de la membrana eritrocitaria. Ejerce también un papel decisivo en el transporte del dióxido de carbono (CO_2), producto del metabolismo de los tejidos que, de esta forma, es transportado hacia los pulmones para ser eliminado por la respiración (proteína intercambiadora de iones o canal aniónico). El CO_2 es un compuesto poco soluble, y en el interior del eritrocito es hidratado a bicarbonato (H_2CO_3) por acción de la anhidrasa carbónica (AC). El pH neutro del eritrocito facilita la disociación del $H_2CO_3^-$ a H^+ y HCO_3^- y a través de la banda 3, el HCO_3^- es intercambiado por Cl^- del plasma y de esta forma es transportado a través del plasma hasta los pulmones donde, mediante una reacción inversa, es liberado en forma de CO_2. En los tejidos, el exceso de H^+ intraeritrocitario se une a la hemoglobina y facilita la liberación del O_2, reacción que se realiza en sentido inverso en los pulmones (efecto Bohr).
3. El dominio citoplasmático de la banda 3 es muy pequeño (residuos 883 y 911), y se desconoce su función precisa. Cabe destacar que en el Asn642 de la banda 3 se halla unida una cadena de lactosaminoglicano, de longitud variable, que constituye el determinante antigénico del grupo sanguíneo Ii. En la anemia diseritropoyética congénita (CDA) tipo II, el tamaño de esta cadena se halla alterado[13]. En los pacientes con formas leves a moderadas de esferocitosis hereditaria (EH) dominante, se han descrito mutaciones (*nonsense* o *missense*) y pequeñas deleciones o inserciones en secuencias del gen *EPB3* que codifican regiones esenciales para la unión de la banda 3 a la bicapa lipídica. Asimismo, la deleción de los aminoácidos 400 a 408 se ha asociado a la ovalocitosis del Sudeste Asiático o *Southeast Asian Ovalocitosis* (SAO). En ciertas formas infrecuentes de acantocitosis hereditaria se han descrito también mutaciones de la banda 3, con aumento del transporte aniónico. Finalmente, la banda 3 también se encuentra en las células intersticiales de los túbulos distales del riñón, donde contribuye al mantenimiento del equilibrio ácido-base de la sangre. Para la síntesis de la proteína AE1 renal, el gen *EPB3* utiliza un promotor loca-

lizado en el intrón 3, por el cual no se sintetizan los primeros 66 aminoácidos del dominio citoplasmático[14].

Glicoforinas. Las glicoforinas son proteínas integrales de características similares a la banda 3, y se caracterizan por su elevado contenido en ácido siálico. Todas las glicoforinas pueden identificarse electroforéticamente (PAGE-SDS) mediante la reacción PAS (tabla 4.2). Basándose en sus propiedades y estructura génica, pueden clasificarse en dos grandes grupos: grupo I, glicoforinas A (GPA), B (GPB) y E (GPE), y grupo II, glicoforinas C (GPC) y D (GPD)[15].

Las glicoforinas del grupo I, aunque sintetizadas por diferentes genes, son estructuralmente homólogas y asociadas a los antígenos de los grupos sanguíneos MNS. Las GPA y GPB contribuyen con más del 90% del ácido siálico de la membrana eritrocitaria, que es el compuesto que confiere carga negativa a la superficie de los eritrocitos. Gracias a ello, éstos no se adhieren entre sí ni con las células del endotelio vascular. La GPA atraviesa todo el espesor de la bicapa, y el polimorfismo de los aminoácidos situados en posición 1 y 5 de su extremo terminal determina la antigenicidad de los grupos sanguíneos M y N. Aunque se hallan en los eritrocitos de manera exclusiva, la GPA puede detectarse también en los precursores más inmaduros de la serie (proeritroblastos) por lo que puede emplearse como un marcador celular específico de serie eritroblástica. La GPB es mucho menos abundante que la GPA y mediante electroforesis en PAGE-SDS se resuelve a nivel de la banda PAS 3 (monómeros de GPB). El polimorfismo de los aminoácidos (treonina o metionina) en la posición 29 determina la antigenicidad del grupo Ss. Aunque se han descrito deficiencias hereditarias de las proteínas GPA y GPB, carecen de expresividad clínica[16].

Las glicoforinas del grupo II se hallan asociadas a los antígenos de los grupos sanguíneos Gerbich (Ge) y a los receptores para el *Plasmodium falciparum*. Ambas proteínas son codificadas por un único gen, utilizando diferentes codones de iniciación. La GPC, al igual que la glicoforina D (GPD), se localiza en la región de la banda de migración PAS-2, y determina la especificidad antigénica del grupo sanguíneo Gerbich. Esta glicoforina tiene gran importancia funcional, ya que se une a la proteína 4,1 y constituye un importante punto de anclaje del esqueleto de la membrana a la bicapa lipídica. El déficit de GPC acompañado también de un déficit de GPD, proteína 4,1 y p55, se ha asociado a una forma peculiar de eliptocitosis congénita en la que, junto a los eliptocitos y ovalocitos, pueden observarse también esferocitos[16].

Otras proteínas integrales. Junto a las glicoforinas y la banda 3, existen otras proteínas integrales que intervienen en la determinación antigénica de grupos Rh, Duffy y Kell. Algunas de ellas no han sido aún bien caracterizadas, pero es probable que, al igual que la banda 3, intervengan en el intercambio de iones a través de la membrana eritrocitaria. Las proteínas Rh constituyen un grupo muy importante de proteínas integrales[17]. Su interés clínico se pone de manifiesto por el hecho de que un déficit del polipéptido cuyo componente oligosacárido expresa la actividad antigénica Rh(D) (fenotipo Rh_0) se asocia a hemólisis crónica y a estomatocitosis (síndrome Rh_0). Los dos genes que codifican los antígenos Rh se hallan muy próximos en el cromosoma 1. En condiciones normales, uno de estos dos genes codifica el antígeno D, y el otro, los antígenos E/e y C/c. En la membrana eritrocitaria, las proteínas Rh forman parte de un macrocomplejo proteínico o multímero de proteínas en el que intervienen la proteína CE, la glicoproteína RhAG, el CD47, la glicoforina B y la glicoproteína LW (ICAM-4). Este complejo presenta interacción con la banda 3, y contribuye al transporte iónico[10].

Otras proteínas integrales relacionadas con el flujo de iones a través de la membrana eritrocitaria son las ATPasas, que intervienen en el intercambio de sodio y potasio (Na^+, K^+-ATPasa o bomba de Na^+, K^+) o de calcio y magnesio. La bomba de sodio regula el intercambio de sodio (Na^+) y potasio (K^+) entre ambos lados de la membrana. Esta proteína, de gran importancia funcional en la regulación del volumen eritrocitario, es inhibida por la ouabaína, y su función, que presupone consumo de ATP (transporte activo), está complementada por otros sistemas de transporte iónico, insensibles a la ouabaína y que no requieren consumo de ATP[18]. Tales sistemas, cuya localización y sustrato proteico en la membrana aún se desconoce, intervienen en el transporte simultáneo de sodio, potasio y cloro en una u otra dirección a través de la membrana (cotransporte Na^+, K^-, Cl^- o K^+, Cl) o en el intercambio de Na^+ entre ambos lados de la misma (contratransporte Na^+, Na^+). Se admite que todos estos sistemas facilitan la función de la bomba de Na^+, K^+ y contribuyen a regular el contenido iónico y acuoso de los eritrocitos (fig. 4.5). Asimismo, los eritrocitos poseen un transportador acuoso denominado acuaforina-1,

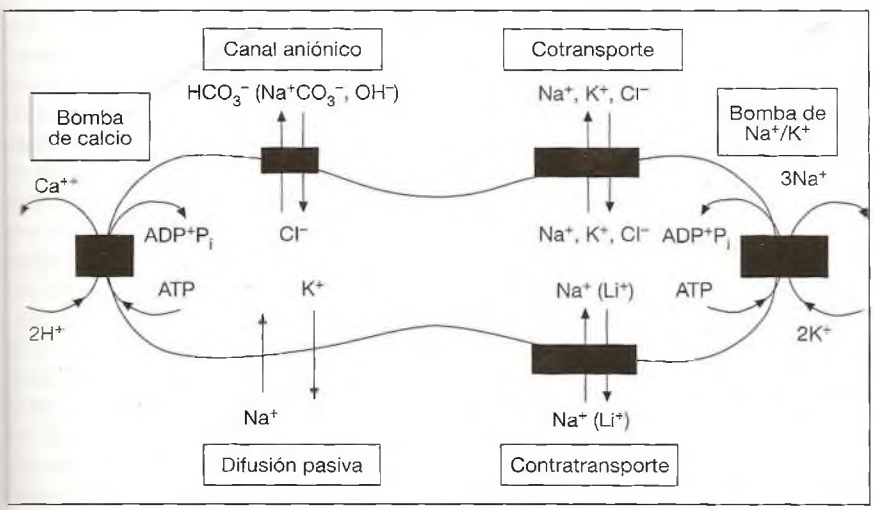


Figura 4.5. Sistemas de transporte iónico transmembranoso. Los más conocidos tienen un soporte proteico: ATPasa responsable de la bomba de sodio (Na^+), potasio (K^+) que es una enzima y la banda 3 o canal aniónico.

que contribuye, por lo menos, al 85% del intercambio osmótico de agua entre ambos lados de la membrana.

Hemoglobina

La hemoglobina (Hb) es el componente mayoritario de los eritrocitos maduros, y su función principal es la oxigenación de los tejidos. Esta función la realiza gracias a su capacidad para fijar reversiblemente el oxígeno molecular que, de esta forma, es transportado desde los pulmones (donde se halla a elevada concentración) hasta los tejidos. Asimismo, también contribuye al transporte del dióxido de carbono (CO_2) desde los tejidos a los pulmones, y a la regulación del pH sanguíneo[19,20].

Estructura

Estructuralmente, la Hb es una proteína de 68 kDa, formada por cuatro subunidades proteicas (globinas), con un grupo hemo en cada una de ellas (fig. 4.6). Existen seis tipos de cadenas globínicas que se denominan alfa (α), beta (β), gamma (γ), delta (δ), épsilon (ε) y zeta (ζ), y cada molécula de Hb posee cuatro de ellas, iguales dos a dos. Las cadenas gamma pueden ser de dos tipos, según que el residuo aminoacídico 136 sea la alanina (Aγ) o la glicina (Gγ). La cadena α contiene 141 aminoacídicos (AAs), dispuestos en una secuencia lineal y unidos por enlaces peptídicos covalentes, y la cadena β es más larga y está compuesta por 146 residuos aminoacídicos. Existe una gran homología estructural entre las cadenas α y ζ, así como entre las cadenas β, $^{G}\gamma$, $^{A}\gamma$, δ y ε. Así, la cadena ζ contiene 141 AAs, a diferencia de las cadenas γ, δ y ε que contienen 146 AAs. Las cadenas δ difieren de las cadenas β en 10 posiciones, las cadenas $^{G}\gamma$ en 39 posiciones (las $^{A}\gamma$ en 40 posiciones), mientras que las cadenas ε presentan más de 36 residuos aminoacídicos diferentes a las cadenas β. Las cadenas $^{G}\gamma$ y $^{A}\gamma$ solamente se diferencian por la presencia de una glicina (Gly) y una alanina (Ala) en posición 136, respectivamente. A pesar de la rigidez del enlace peptídico, cada cadena polipeptídica tiene una libertad de rotación considerable, lo que da lugar a una configuración

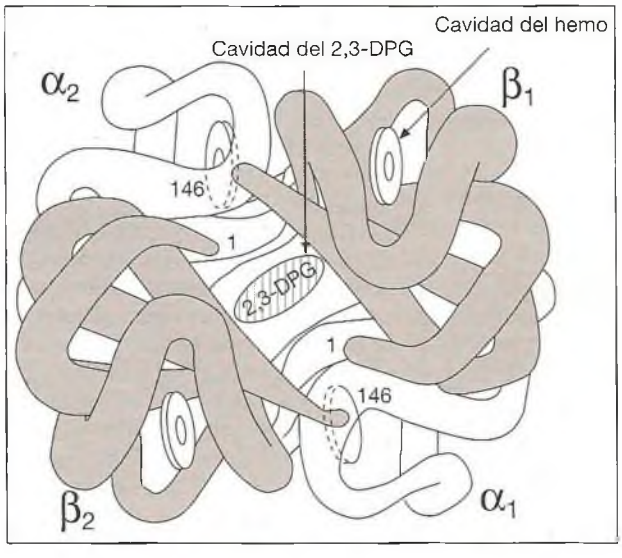


Figura 4.6. Configuración espacial de la molécula de hemoglobina. Las dos cadenas de globina alfa (α) y las dos de beta (β) dejan, cada una de ellas, un espacio para alojar el grupo hemo (cavidad del hemo). En el centro de la molécula, las cuatro cadenas configuran la cavidad del 2,3-DPG (2,3-difosfoglicerato).

estable, en α-hélice, que determina su estructura secundaria. La α-hélice contiene 3,6 AAs por giro, con un movimiento translacional de 1,5 Å por residuo en torno al eje helicoidal. En su estado nativo, cerca del 80% de las cadenas α y β presentan esta configuración, que se estabiliza mediante puentes de hidrógeno intramoleculares, los cuales son relativamente débiles, y pueden romperse fácilmente por la acción del calor o de diversos agentes desnaturalizantes. La cadena α contiene siete segmentos helicoidales (A, B, C, E, F, G y H) y la cadena β, ocho (incluye la hélice D); estas hélices están conectadas mediante segmentos no helicoidales (interhelicoidales), designados con las letras de las dos hélices en contacto, que también se encuentran en los extremos amino terminal (*N-terminal*) y carboxilo terminal (*C-terminal*). La disposición espacial que genera el plegamiento de la cadena polipeptídica y de sus estructuras helicoidales constituye la estructura terciaria de la Hb. Cada grupo hemo está situado en una cavidad (cavidad del hemo) que forma la cadena polipeptídica, la cual está constituida por AAs hidrofóbicos, que se localizan en las hélices B, C, E, F, G y H y en los segmentos interhelicoidales CD y FG. En la cadena α existen 19 residuos que forman las regiones de contacto con el grupo hemo, mientras que en la cadena β, hay 21. Los residuos polares ionizados, como el ácido aspártico (Asp) o el ácido glutámico (Glu), y los grupos básicos, como la histidina (His), la lisina (Lys) o la arginina (Arg), están situados en la superficie externa de la cadena plegada. La presencia de residuos de prolina (Pro) constituye un factor adicional que influye en la forma de plegamiento de la cadena. La cadena lateral de este AA puede formar una estructura cíclica sobre sí misma, destruyendo la configuración en α-hélice y provocando un giro en la cadena polipeptídica.

Las subunidades proteicas, al unirse entre ellas, forman una estructura globular conocida como estructura cuaternaria de la hemoglobina. Esta estructura dispone de cavidades en las que se alojan los grupos hemo, y en su región central delimitan un espacio para que el 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG), pueda realizar su función reguladora del transporte de oxígeno[21]. La estructura cuaternaria de la hemoglobina fue determinada por Perutz a finales de la década de 1960, mediante análisis cristalográfico con rayos X. Las cuatro cadenas que constituyen la Hb están empaquetadas conjuntamente en disposición tetraédrica, dando lugar a una estructura elipsoidal compacta, con unas dimensiones aproximadas de 64 × 55 × 50 Å. Entre las cadenas α y β pueden establecerse dos tipos de contacto: α_1-β_1 o α_2-β_2 (más frecuente) y α_1-β_2 o α_2-β_1. Existen unos 40 contactos de tipo α_1-β_1 incluyendo nueve puentes de hidrógeno, que son idénticos tanto en la Hb oxigenada (*oxihemoglobina*) como en la no oxigenada (*desoxihemoglobina*). Los contactos de tipo α_1-β_2 son diferentes según el estado de oxigenación de la molécula. En la desoxihemoglobina (desoxi-Hb), existen unos 40 contactos, incluyendo 19 puentes de hidrógeno mientras que en la oxihemoglobina (oxi-Hb) existen 22 contactos, con 12 puentes de hidrógeno. Los residuos que participan en el contacto de tipo α_1-β_2 son invariables, y han sido altamente conservados a lo largo de la evolución; por tanto, la sustitución de alguno de ellos puede provocar alteraciones drásticas en las propiedades funcionales de la Hb. En la oxi-Hb, los residuos C-terminales de las cuatro cadenas tienen una libertad de rotación casi completa. Por el contrario, en la desoxi-Hb, los grupos carboxilo y las cadenas laterales de los residuos C-terminales participan en *enlaces salinos* (interacciones electrostáticas) que sujetan el tetrámero, proporcionándole

mayor estabilidad. Los grupos hemo están localizados en unas cavidades cercanas al exterior de la molécula, uno en cada subunidad, y situados equidistantemente unos de otros. Las distancias entre los átomos de hierro de los cuatro grupos hemo también varían entre la oxi-Hb y la desoxiHb. La estructura cuaternaria de la Hb varía durante la oxigenación, debido a que el átomo de hierro se introduce en el plano de la porfirina arrastrando la His en posición F8 (*His proximal*), para poder formar un enlace fuerte con el O_2[22,23]. Al estado desoxigenado o reducido de la Hb (desoxi-Hb) se le asigna la forma T (tensa), y al estado oxigenado (oxi-Hb), la forma R (relajada).

La capacidad de la Hb para enlazar O_2 depende de la presencia de cuatro grupos prostéticos (no proteicos) denominados *grupos hemo*, que confieren a la hemoglobina su color rojo característico. La estructura del grupo hemo fue establecida en 1912 por Kuster, y cada molécula de hemoglobina dispone de cuatro de ellos, cada uno con un peso molecular aproximado de 614 Da y alojado en una cavidad que forma cada subunidad proteica (fig. 4.6). Todos los aminoácidos de esta cavidad son apolares, excepto la His en posición F8 (*His proximal*), que está unida covalentemente al hierro del grupo hemo, y la His E7 (*His distal*), que queda próxima al grupo hemo, pero no unida a él. El grupo hemo consta de una estructura cíclica planar, llamada protoporfirina IX y de un átomo de hierro. La protoporfirina IX está constituida por cuatro *anillos pirrólicos*, unidos entre sí por puentes metenos, formando un anillo tetrapirrólico (fig. 4.7). La posición central de este anillo está ocupada por un átomo de hierro en estado reducido (Fe^{++}). La estructura espacial que adopta el hierro en su unión a la protoporfirina IX presenta seis valencias de coordinación, una de las cuales se une directamente a la cadena globínica y otra fija reversiblemente el O_2. La unión del O_2 al grupo hemo sólo es posible cuando el hierro se halla en estado reducido (Fe^{++}), y la forma correspondiente de la Hb es la *ferrohemoglobina* (*ferro-Hb*). Cuando el hierro se oxida (Fe^{+++}), la Hb se transforma en *ferrihemoglobina* (*ferri-Hb*) o *metahemoglobina* (*meta-Hb*), que carece de capacidad para establecer esta unión y, por tanto, de captar O_2.

La capacidad de la hemoglobina para transportar oxígeno reside en su estructura oligomérica, que permite la cooperación entre las subunidades de globina en su unión o liberación del oxígeno molecular. En este proceso, la molécula de Hb sufre un cambio de su conformación (alosteria) en el sentido de expansión cuando incorpora oxígeno (hemoglobina oxigenada u oxi-Hb) y de contracción cuando lo libera (hemoglobina desoxigenada o desoxi-Hb).

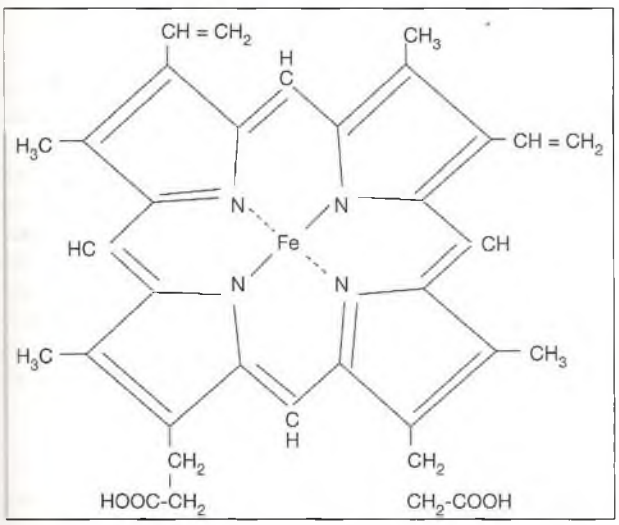


Figura 4.7. Estructura del grupo hemo. Un átomo de hierro se halla situado en el centro de una molécula plana de protoporfinina IX.

Funciones

La hemoglobina realiza su función respiratoria transportando el oxígeno desde los pulmones a los tejidos y participando en el transporte de dióxido de carbono (CO_2) en sentido inverso. Asimismo, y gracias a su capacidad amortiguadora, interviene también en la regulación del pH sanguíneo.

El papel de la hemoglobina como transportadora de O_2 depende de su capacidad para captar y liberar el O_2 en respuesta a los cambios de presión parcial de O_2 (PO_2). Cada molécula de Hb puede unirse a un máximo de cuatro moléculas de O_2, una molécula por cada grupo hemo. La unión hemo-O_2 es reversible, de modo que cuando la concentración de O_2 o la PO_2 es elevada, el O_2 se une a la Hb hasta saturarla, y cuando la PO_2 disminuye, el O_2 se libera en los tejidos. A cada PO_2 le corresponde un grado de saturación de la Hb, dado que la unión del O_2 sigue una cinética sigmoidea; esto significa que pequeños cambios de PO_2 inducen grandes cambios en la saturación. Fisiológicamente, esta propiedad facilita que la Hb se cargue de O_2 en el pulmón (PO_2 ~ 100 mmHg) y lo libere en los tejidos (PO_2 ~ 25 mmHg). La forma sigmoidea de saturación es el resultado de la interacción entre las cuatro subunidades de la Hb, ya que cada una de ellas por separado seguirían una cinética hiperbólica. Esta condición implica que cuando una subunidad de Hb fija O_2, favorece la fijación en las otras tres, y lo contrario ocurre cuando una subunidad libera O_2 (*efecto cooperativo*). Estos cambios conformacionales de la molécula de hemoglobina en su unión con el oxígeno se representan gráficamente mediante la llamada curva de disociación de la oxihemoglobina, en la que puede observarse cómo la hemoglobina garantiza siempre la máxima capacidad de transporte y liberación de oxígeno, aun en presencia de concentraciones muy bajas de oxígeno (fig. 4.8a). A partir de esta curva, puede determinarse la llamada P_{50} o valor de la PO_2 para el que la hemoglobina presenta un 50% de saturación, y corresponde al parámetro utilizado en clínica para expresar la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno. Esta afinidad es regulada por diversos factores intraeritrocitarios entre los que destacan la temperatura, el pH y la concentración de 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG).

1. La unión del O_2 a la Hb disminuye al aumentar la temperatura. En estados febriles, las células aumentan su metabolismo y, por tanto, su necesidad de consumo de O_2. Así, a una temperatura corporal de 40 °C la capacidad de descarga de O_2 por la Hb se incrementa en un 35%.
2. Pequeños cambios de pH modifican de forma importante la capacidad de la hemoglobina para unirse al oxígeno. Así, cuanto mayor sea el pH a una determinada PO_2, mayor será el porcentaje de saturación con O_2. Esto es debido a que cuando la Hb se oxigena, queda ionizada y deja libre un protón por cada molécula de O_2 unida, de acuerdo con la ecuación:

$$HHb^+ + O_2 \Leftrightarrow HbO_2 + H^+$$

Esta ecuación es reversible, por lo que el incremento de la concentración de H^+ provoca un descenso de la saturación

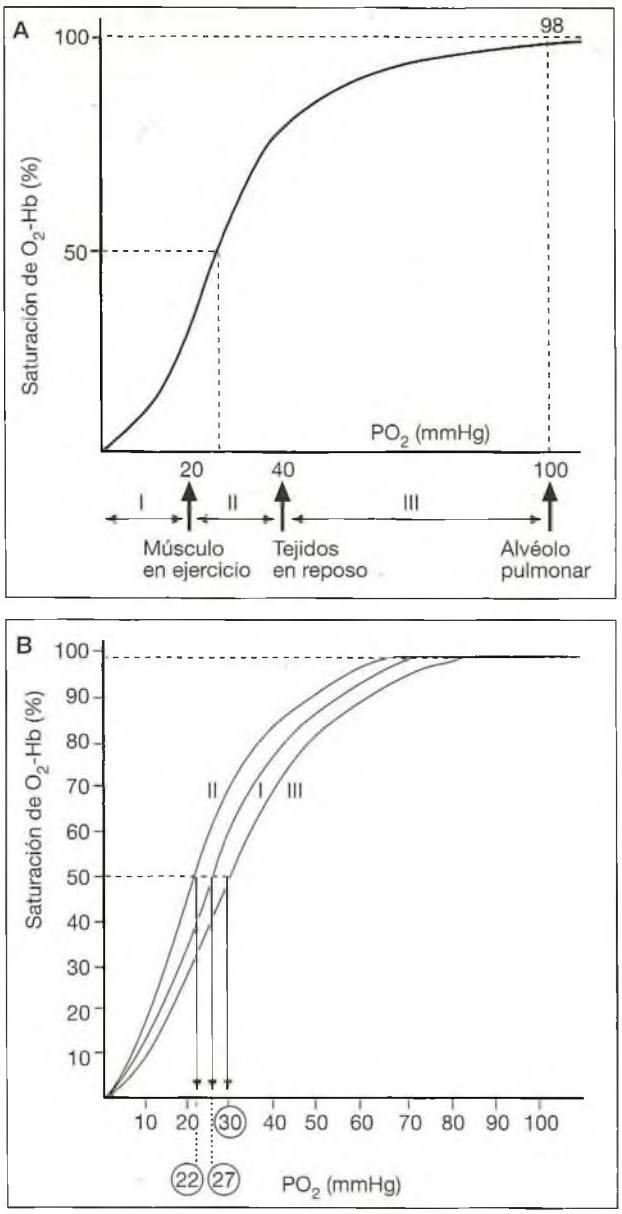


Figura 4.8. *A*, curva de disociación hemoglobina-oxígeno (O_2) con sus tres segmentos correspondientes a diferentes valores de PO_2:
I: músculo esquelético (PO_2 < 20 mmHg).
II: tejidos en reposo (PO_2: 20-40 mmHg).
III: alvéolo pulmonar (PO_2: 100 mmHg).
Obsérvese cómo en el nivel I (tejidos en reposo), pequeñas variaciones de la PO_2 producen grandes variaciones del grado de saturación, facilitando una rápida liberación del oxígeno transportado (efecto alostérico), mientras que en el nivel III prácticamente toda la hemoglobina se halla saturada por el oxígeno.
B, acción de diferentes concentraciones intraeritrocitarias de 2,3-DPG sobre la curva de disociación oxígeno-hemoglobina. I: normal, II: disminución, y III: aumento.

(desplazamiento de la ecuación hacia la izquierda), estabilizando el estado desoxigenado de la molécula de Hb y favoreciendo la liberación de O_2 en los tejidos. Por el contrario, la disminución de la concentración de H^+ provoca un incremento de la saturación de la Hb (fig. 4.8b). El efecto del pH sobre el equilibrio O_2-Hb recibe el nombre de *efecto Bohr*, y esta propiedad tiene un gran significado fisiológico por sus efectos en el transporte de CO_2 en la sangre. La Hb también es responsable del transporte directo del 10% del CO_2 respirado, el cual reacciona químicamente y de forma reversible con el grupo N-terminal, principalmente de las cadenas α, dando lugar a la carbaminohemoglobina ($HbCO_2H$). Dado que el CO_2 se une más fácilmente a la desoxi-Hb, esto facilita la liberación del CO_2 de la circulación. Tanto los hidrogeniones a través del efecto Bohr como el CO_2 uniéndose directamente a la Hb, contribuyen a disminuir la afinidad por el oxígeno, favoreciendo así la oxigenación de los tejidos (fig. 4.9).

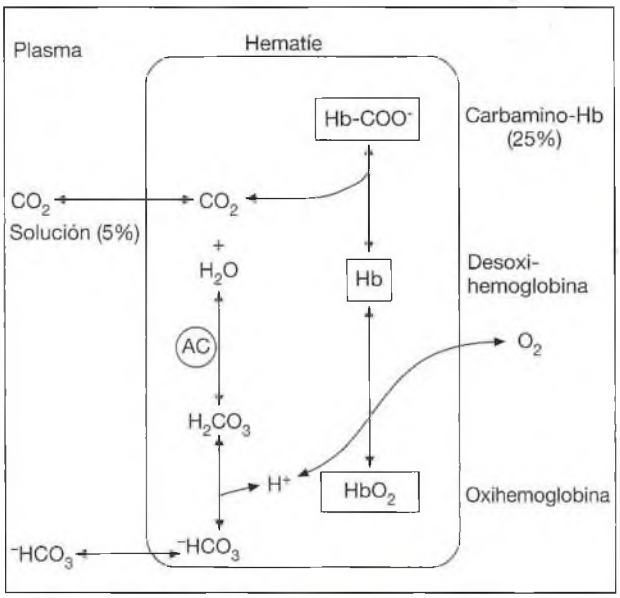


Figura 4.9. Mecanismo de transporte del dióxido de carbono (CO_2) por los eritrocitos. AC: anhidrasa carbónica. Para explicación, véase el texto.

3. Finalmente, algunos fosfatos orgánicos aumentan la estabilidad de la desoxi-Hb. En los eritrocitos humanos, el más importante es el *2,3-DPG*, que se halla presente a una concentración de 4-5 mM, correspondiente a la concentración de Hb intracelular. Una molécula de 2,3-DPG se introduce en la cavidad central que forman las cuatro subunidades de la desoxi-Hb, modificando su disposición espacial y dificultando así la entrada del O_2. Sólo cuando la PO_2 es elevada el O_2 desplaza al 2,3-DPG y se une a la Hb. Así el 2,3-DPG reduce la afinidad de la Hb por el O_2, estabilizando la forma T (desoxi-Hb). En términos cinéticos, el 2,3-DPG desplaza el equilibrio respiratorio de la hemoglobina hacia la forma desoxigenada (desoxi-Hb), y favorece la liberación de oxígeno. Este efecto se expresa en la curva de disociación de la oxihemoglobina por un desplazamiento hacia la derecha y un aumento de la P_{50} (fig. 4.8). La Hb F tiene menor afinidad por el 2,3-DPG que la Hb A, lo que se traduce en una mayor afinidad por el O_2, facilitando el transporte de O_2 de la sangre materna a la fetal.

Biosíntesis

La síntesis de la hemoglobina se realiza a través de dos vías metabólicas diferentes pero estrechamente relacionadas en lo que se refiere a regulación metabólica: la síntesis del grupo hemo y la síntesis de la globina.

Síntesis del hemo

El grupo hemo es sintetizado en los eritroblastos a partir de la glicina (Gly) y la succinil coenzima A (CoA), y consta de cuatro etapas fundamentales, dos de ellas intramitocondriales y dos citoplasmáticas (fig. 4.10). En la primera etapa, intramitocondrial y reguladora de toda la vía, la Gly y el CoA se condensan para formar ácido δ-aminolevulínico (ALA) en una reacción catalizada por la *δ-ALA-sintetasa* que requiere un cofactor llamado piridoxalfosfato (vitamina B_6). En la segunda etapa, citoplasmática, el δ-ALA es transportado al citosol, y dos moléculas del mismo se unen para formar porfobilinógeno (PBG) en una reacción catalizada por la enzima *δ-ALA-deshidrasa*[24]. El PBG es el componente básico de todos los tetrapirroles naturales presentes en grupos como el hemo, las clorofilas y las cobalaminas. La tercera etapa se desarrolla en presencia de dos enzimas que actúan de forma coordinada (uroporfirinógeno I-sintetasa o porfobilinógeno desaminasa y uroporfirinógeno III-cosintetasa o uroporfirina III-sintetasa), y consiste en la condensación de cuatro moléculas de PBG para dar lugar al compuesto hidroximetilbilano (HMB). Bajo la acción de la enzima uroporfirín III-sintetasa (URO III-sintetasa) el HMB se transforma en uroporfirinógeno III (URO III) que, a través de una serie de reacciones de descarboxilación catalizadas por el uroporfirinógeno descarboxilasa (URO descarboxilasa), se transforma en coproporfirinógeno III (COPRO III). Finalmente, en la cuarta etapa, el COPRO III es transportado al interior de la mitocondria y, mediante un conjunto de reacciones catalizadas por la coproporfirinógeno oxidasa (COPRO oxidasa), se transforma en protoporfirina IX que, finalmente, y mediante reacción enzimática catalizada por la ferroquelatasa o hemosintetasa, se une al hierro (reducido) para constituir el grupo hemo. En el control de esta vía de síntesis interviene fundamentalmente la δ-ALA sintetasa, enzima clave cuya actividad (y probablemente también síntesis) resulta inhibida por el propio hemo (retroinhibición). Debido a ello las sustancias capaces de bloquear la síntesis del grupo hemo tienen como consecuencia un aumento de la acti-

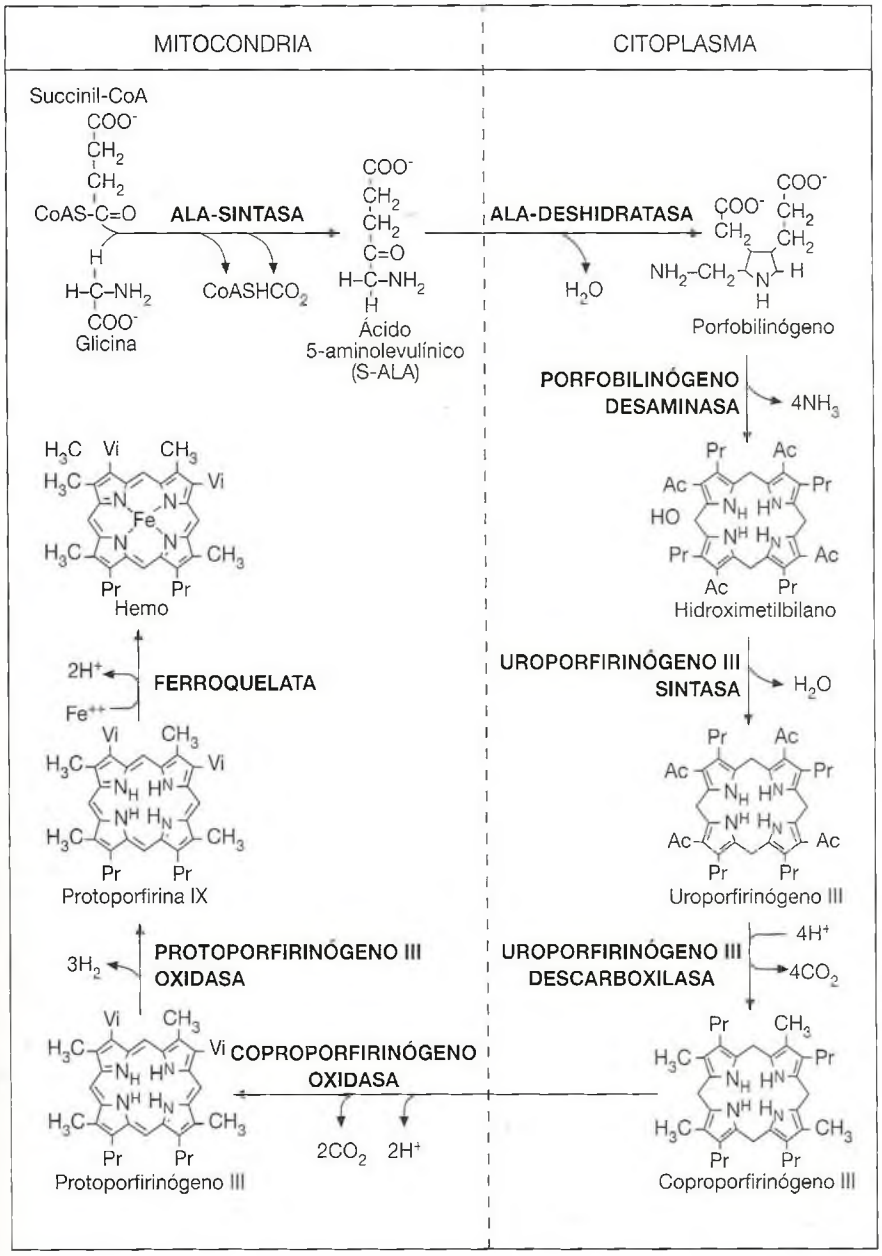


Figura 4.10. Mecanismo de síntesis del grupo hemo. Para explicación, véase el texto.

vidad δ-ALA sintetasa, facilitando el acúmulo de porfirinas por exceso de síntesis (porfirias)[25,26].

Síntesis de la globina

Las cadenas α y β de la globina están codificadas por *loci* genéticos independientes, cuya expresión está regulada de forma coordinada para asegurar una producción equivalente de ambos polipéptidos. Los seis tipos de cadenas globínicas que existen (α, β, γ, δ, ε, y ζ), varían según los organismos, y se expresan en distintas etapas del desarrollo, por lo que es necesario un mínimo de seis genes estructuralmente diferentes. En el hombre, estas cadenas globínicas se dividen en dos grupos, lo que refleja la organización de los distintos genes: cadenas de tipo α (ζ y α) y cadenas de tipo β (ε, γ, δ y β). La síntesis de estas cadenas globínicas está regulada por dos familias de genes organizados en agrupaciones (*clusters*) que se localizan en diferentes cromosomas: la agrupación de genes que codifica para las cadenas α (*cluster α-globina*) se halla en el cromosoma 16 y, la agrupación de genes que codifica para las cadenas β (*cluster β-globina*), en el cromosoma 11[27]. Todos los genes que componen dichas agrupaciones tienen estructuras similares, que consisten en tres regiones codificadoras o *exones* (exones 1, 2 y 3), dos regiones no codificadoras o *intrones* (IVS I y II), una *secuencia promotora* en el extremo 5' y una región que contiene la *señal de poliadenilación* (poli A) en el extremo 3'. La posición de los intrones está conservada en todos los genes de las globinas de las diferentes especies, lo que indica las secuencias prematuras de la evolución (hace aproximadamente 500 millones de años) que determinaron los distintos dominios funcionales de la proteína. Así, el exón 2 codifica toda la región de unión al grupo hemo y los contactos α_1-β_2, mientras que el exón 3 codifica los contactos α_1-β_1. Sin embargo, los residuos que contribuyen al efecto Bohr y las zonas de unión al 2,3-DPG están codificadas por regiones distribuidas de forma aleatoria. El tamaño y la secuencia de los intrones son diferentes, y pueden variar de un individuo a otro. Existe mayor divergencia entre la estructura de los intrones en determinados genes de las globinas que entre sus secuencias codificadoras. Los diferentes genes que constituyen cada una de estas agrupaciones están situados a lo largo del cromosoma correspondiente, en el orden en el cual son expresados durante el desarrollo[28].

Estructura del cluster α-globina. En el ser humano, la familia de genes α globina, está formada por un gen embrionario (ζ_2), dos genes fetales/adultos (α_2 y α_1), varios seudogenes ($\psi\zeta_1$, $\psi\alpha_2$ y $\psi\alpha_1$) y un gen de función indeterminada (θ_1), dispuestos en el siguiente orden: telómero-ζ_2-$\psi\zeta_1$-$\psi\alpha_2$-$\psi\alpha_1$-α_2-α_1-θ_1-centrómero (fig. 4.11). Estos genes funcionales y seudogenes se localizan en una región genómica que comprende unas 30 kilobases (kb) cerca del telómero del brazo corto del cromosoma 16(16p13.3). El cluster α-globina y el extenso segmento de DNA que lo flanquea (150 kb), constituyen una región de DNA caracterizada, principalmente, por presentar muchos dinucleótidos de guanina y citosina (G + C) ≥ 60% y secuencias repetidas dispersas cortas de la familia *Alu* I. Varias regiones del cluster α-globina contienen secuencias cortas de DNA que forman repeticiones en tándem. Estas secuencias incluyen distintas regiones hipervariables (HVR) localizadas en el extremo 3' del complejo (α-globina 3'HVR), entre los genes ζ_2 y $\psi\zeta_1$ (interζ-HVR), en los intrones (IVS I, IVS II) del gen ζ (ζ-intrón HVRs) y en una región situada en el extremo 5' del cluster α-globina (α-globina 5'HVR). Estas regiones HVR no modifican la expresión de los genes α-globina; sin embargo, pueden utilizarse para poner en evidencia los polimorfismos interindividuales[29].

Los dos genes estructurales α (α_2 y α_1) presentan una gran homología, y están compuestos por tres exones idénticos, de 90, 210 y 120 nucleótidos (nts) respectivamente, y dos intrones de 117 y 140-149 pares de bases (pb). El primer intrón (IVS I) está localizado entre los codones 31 y 32, y el segundo (IVS II), entre los codones 99 y 100. Ambos genes únicamente difieren en unos pocos nucleótidos situados en el IVS II y en la región 3' no codificadora (17% de divergencia), por lo que codifican para proteínas idénticas. Por otro lado, a pesar de la similitud en la estructura de la cadena polipeptídica que sintetizan, los genes α y ζ, presentan sólo una homología del 58% en sus 141 AAs.

Estructura del cluster β-globina. La familia de genes β-globina se extiende sobre una región de, aproximadamente, 50 kb a lo largo del brazo corto del cromosoma 11, en la banda p15,5, y está constituida por un gen embrionario (ε), dos genes fetales ($^{G}\gamma$ y $^{A}\gamma$), dos genes adultos (δ y β) y un seudogén (ψβ). Estos cinco genes están compuestos por tres exones, interrumpidos por dos intrones, localizados en posicio-

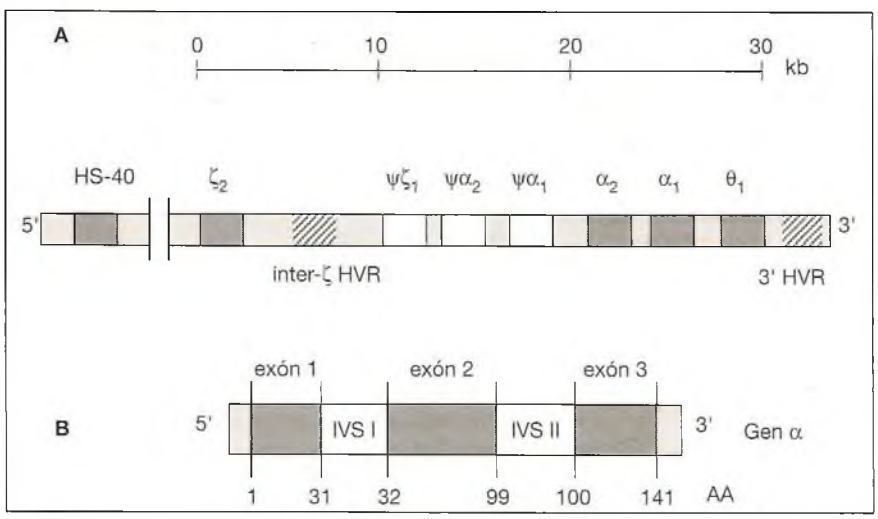


Figura 4.11. Estructura del cluster del gen globina α. La escala (en kb) indica el tamaño aproximado del cluster α localizado en el cromosoma 16. En el cluster, los recuadros en oscuro representan los genes activos (α1, α2 y x), y en blanco, los seudogenes. Las regiones hipervariables (HVR) están señaladas con líneas oblicuas. La región reguladora del cluster α-globina (HS-40) se halla también indicada en el extremo 5'.

nes idénticas: el primero (IVS I), con una longitud de 122 a 130 pb, está entre los codones 30 y 31 y, el segundo (IVS II), con un tamaño de 850 a 900 pb, está entre los codones 104 y 105 (fig. 4.12). El cluster β-globina contiene muchos fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLP), y presenta una composición nucleotídica más normal que el cluster α-globina, con un contenido en G + C del 39,5%. Al igual que el cluster α-globina, el cluster β presenta secuencias repetidas de la familia Alu I, localizadas en el extremo 5' del gen ε y a ambos lados de los genes γ y de los genes δ/β. Asimismo, se ha descrito la presencia de otros dos tipos de secuencias repetidas dispersas cortas, una de las cuales pertenece a la familia Kpn I, y está situada en el extremo 3' del gen β y en el extremo 5' del gen $^{G}\gamma$, y la otra, una secuencia repetida altamente conservada durante la evolución, con una longitud de aproximadamente 250 pb, que se localiza entre los genes δ y β. El papel de estas secuencias repetidas se desconoce[30,31].

Secuencias conservadas en los genes de las globinas. Las regiones de DNA que flanquean los extremos 5' de los genes que codifican para las globinas humanas contienen dos tipos de secuencias, comunes a todos estos genes, que intervienen en su transcripción: las secuencias que constituyen el promotor propiamente dicho, y las secuencias intensificadoras de la transcripción, llamadas activadoras (*enhancers*). El promotor está compuesto por varias secuencias conservadas, distribuidas en todos los genes de la globina, a una distancia similar y por delante (dirección 5') del sitio de iniciación de la transcripción (CAP *site*). La primera de ellas es la secuencia ATAA, que constituye la llamada ATA o TATA *box*, situada a unos 30 nucleótidos por delante del CAP *site* (–30 nt). La segunda región conservada es la secuencia CCAAT (CAAT *box*), localizada a unos 80 nucleótidos por delante del CAP *site*. En el caso del gen δ-globina, existen tres secuencias del tipo CCAAT, pero ninguna de ellas tiene la secuencia exacta, siendo la más parecida la CCAAC y, en el caso de los genes γ-globina, la secuencia CCAAT está duplicada. La tercera secuencia conservada del promotor, la secuencia GT, es más variable y pueden encontrarse varias secuencias de este tipo. El papel fundamental del promotor es facilitar la unión de la RNA polimerasa II y asegurar la iniciación de la transcripción a partir del CAP *site*; por lo tanto, los cambios en alguna de estas secuencias pueden provocar una disminución en la transcripción del RNA. Además del promotor, las secuencias intensificadoras, que pueden estar situadas a mayores distancias del CAP *site*, tienen una función estrictamente reguladora, respondiendo a distintos factores activadores de la transcripción. Por otro lado, también existen secuencias nucleotídicas de consenso en las zonas de unión entre los exones y los intrones de los diferentes genes de las globinas, que presentan una gran homología y conservación en sus extremos 5' y 3'. En el extremo 5' de los intrones de todos los genes de las globinas, así como en muchos otros genes, existe un dinucleótido invariable GT (región dadora), y en el extremo 3' el dinucleótido invariable AG (región aceptora) que regulan el proceso de escisión de los intrones y el empalme de los exones transcritos (*splicing*), imprescindible para la formación del RNAm maduro. Este proceso requiere también otras secuencias de nucleótidos, situadas en la vecindad de la región dadora, prácticamente siempre residuos adicionales de A y G, que generan una secuencia consenso AGGT en el extremo 5' del lugar de *splicing*[31,32].

Secuencias reguladoras de la expresión. La expresión de los diferentes genes que codifican las globinas está controlada por una región reguladora situada en el extremo 5' de cada cluster. En el cluster α-globina, esta región reguladora, llamada HS-40, se caracteriza por presentar un sitio hipersensible (HS) a una DNasa I específica eritroide, localizado a unas 40 kb por delante del gen embrionario ζ. La expresión del cluster β-globina depende de un elemento regulador, llamado *β-locus control región* (β-LCR), que contiene muchos lugares hipersensibles a la digestión por la enzima DNasa I, distribuidos sobre unas 15 kb por delante del gen ε. En ausencia del β-LCR, los genes β de la globina humana son expresados a bajos niveles en los ratones transgénicos y, además, su expresión depende de la posición de integración en el genoma huésped y del número de copias del transgén insertado. La aparición de lugares hipersensibles a lo largo del desarrollo está asociada con la expresión de los diferentes genes de las globinas, y su presencia indica una mayor accesibilidad al DNA por parte de determinadas proteínas solubles, como los factores de transcripción. Cada una de estas secuencias reguladoras (HS-40 y β-LCR) consiste en un segmento de DNA, cuya longitud oscila entre 200 y 300 pb, que incluye diversos lugares de unión para una gran variedad de factores específi-

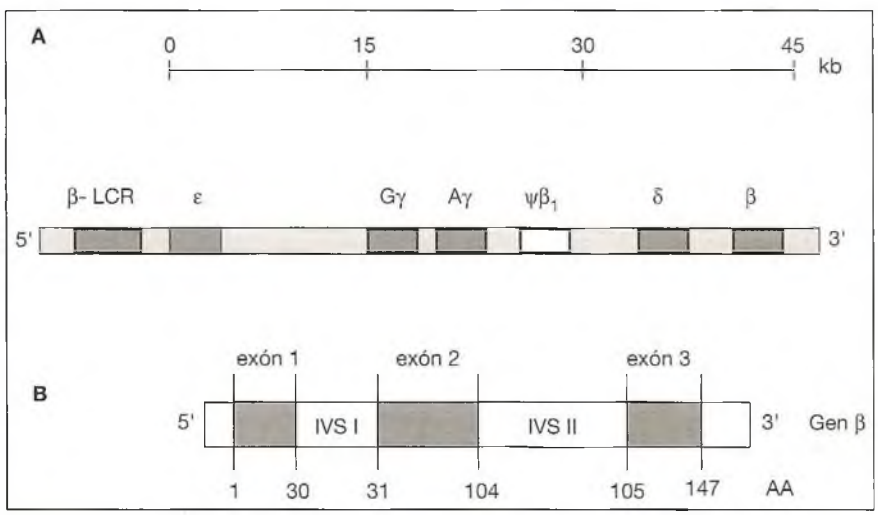


Figura 4.12. Estructura del cluster del gen globina β. La escala (en kb) indica el tamaño aproximado del cluster β localizado en el cromosoma 11. En el cluster, los recuadros en oscuro corresponden a los genes activos, y el recuadro en blanco, al seudogén. La región reguladora del cluster β-globina (β-LCR) se indica en el extremo 5'.

cos de la transcripción eritroide (GATA-1, NF-E2, etc.) tanto *in vivo* como *in vitro*. Por consiguiente, ambas secuencias están implicadas en la especificidad tisular de la expresión de los genes globínicos durante la diferenciación eritroide[33].

Expresión de los genes de globina. El mecanismo implicado en la expresión génica y síntesis proteica en los organismos eucariotas ha sido establecido con mucho detalle. La expresión de las diferentes cadenas globínicas en las células eritroides, al igual que cualquier otra proteína, incluye los siguientes pasos: 1) transcripción; 2) procesamiento o maduración del RNA mensajero (RNAm); 3) transporte del RNAm desde el núcleo hasta el citoplasma, y 4) traducción del RNA maduro a proteína por la acción de los ribosomas. Este proceso se representa de forma esquemática en la figura 4.13. En la conformación definitiva de la molécula de hemoglobina intervienen también otras tres etapas: 1) liberación del aminoácido N-terminal metionina; 2) ensamblado o unión del grupo hemo a cada globina, y formación de dímeros de globina-hemo, y 3) unión de los dímeros globina-hemo para constituir la molécula definitiva de hemoglobina[31].

1. La *transcripción* se inicia en la región CAP situada a unos 50 pb por delante del codón de iniciación (AUG), el cual constituirá el extremo 5′ del RNAm maduro después de su procesamiento. Los genes de la globina se transcriben mediante la acción de la RNA polimerasa de tipo II, que sintetiza un transcrito primario (pre-RNAm), el cual es rápidamente procesado en el núcleo para convertirse en RNAm maduro.
2. La *maduración* o procesamiento del RNAm consiste en la adición de un fragmento CAP (un nucleótido de guanina modificado) al extremo 5′, y de una cola de poliadenilato o poli(A) al 3′, elementos que probablemente sirven para estabilizar el transcrito y prevenir los ataques de las exonucleasas. Estudios *in vitro* han demostrado que la transcripción no termina cuando la RNA polimerasa II llega al nucleótido donde se añade la cola de poli(A), que constituirá el extremo 3′ del RNA maduro sino que continúa a lo largo de una región de DNA de longitud variable. A continuación, tiene lugar un proceso de escisión y empalme (*splicing*) que elimina los intrones en varias etapas, mediante una serie de sucesivas roturas y regeneraciones de los enlaces fosfodiéster. En la última etapa, se forma un enlace covalente entre el último nucleótido del exón anterior y el primero del exón posterior, dando lugar al RNAm maduro sin intrones.
3. El *transporte* de RNAm maduro desde el núcleo hasta el citoplasma es seguido de su unión a los ribosomas para iniciar el proceso de la traducción o síntesis de cadenas globínicas propiamente dicha en presencia de los AAs apropiados y de diversas enzimas. Se han descrito una gran variedad de factores proteicos necesarios para la iniciación, elongación y terminación de la traducción de las cadenas globínicas en el citoplasma[30,31]. Las moléculas de RNAm tienen una vida media relativamente larga, por lo que antes de ser traducidas pueden permanecer temporalmente en el citoplasma del eritroblasto, persistiendo incluso la síntesis proteica. Debido a ello, cuando el eritroblasto ortocromático pierde el núcleo y se transforma en reticulocito, se mantiene durante cierto tiempo una intensa síntesis de cadenas globínicas.
4. Para la *traducción*, los RNAm de las cadenas α y β-globina se asocian individualmente con polisomas de diferente tamaño para sintetizar las cadenas α y β las cuales, inicialmente, se combinan entre sí para formar dímeros αβ.

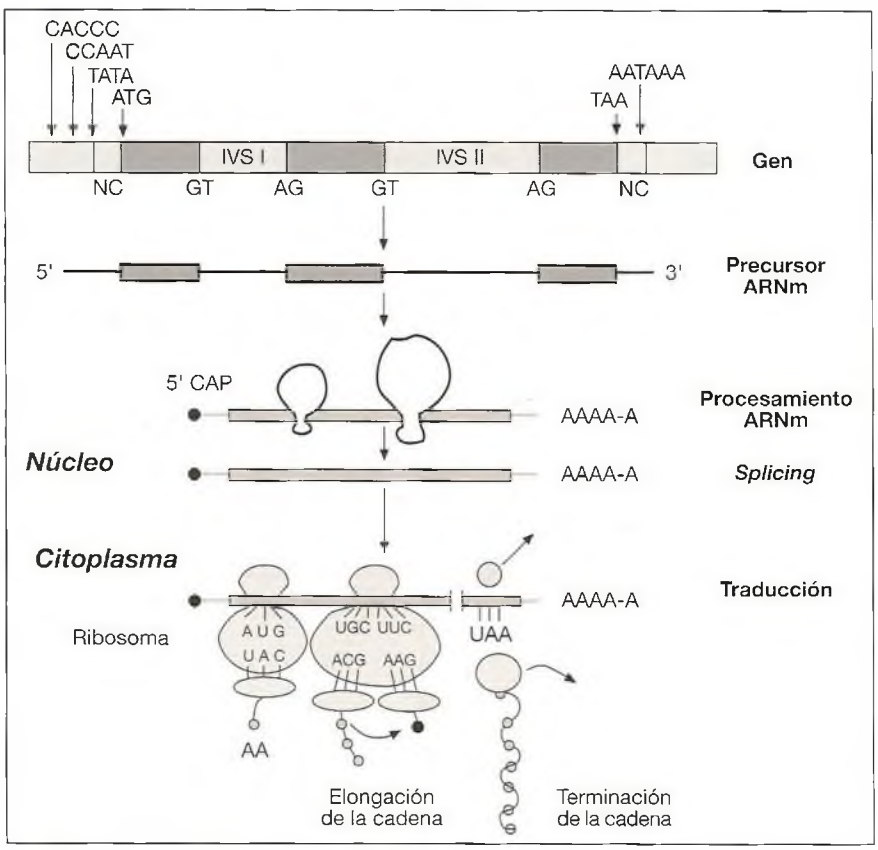


Figura 4.13. Mecanismo de síntesis de las cadenas de globina.

Inmediatamente después, estos dímeros incorporan los grupos hemo y, posteriormente, se asocian para constituir tetrámeros estables de hemoglobina. Las globinas α y β individuales no son tan estables como los tetrámeros normales de Hb ($\alpha_2\beta_2$). Cuando existe un exceso de cadenas α-globina, éstas tienden a agregarse, haciéndose insolubles, y pueden llegar a precipitar a elevadas concentraciones. Las cadenas β-globina que no se asocian con las subunidades α, se combinan entre ellas para formar tetrámeros de cadenas β (β_4), dando lugar a la llamada Hb H, que es mucho menos estable que la Hb normal.

El estudio de los niveles de RNAm de los genes α_1 y α_2 en individuos normales y heterocigotos para diferentes hemoglobinopatías ha permitido determinar que la transcripción del gen α_2 es entre 2,5 y 3 veces superior a la del gen α_1, si bien la eficacia de la traducción de este último es de 2,5 a 3 veces superior a α_2. El resultado sería una síntesis casi igual de cadenas α-globina desde cualquiera de los dos genes α.

Regulación genética de la expresión. La expresión del grupo de genes que codifica para las globinas está regulada fundamentalmente por las regiones HS-40 y β-LCR localizadas en el extremo 5′ del cluster α y β, respectivamente. Asimismo, la regulación de la expresión de estos genes está mediada, en parte, por unas proteínas activadoras (factores transcripcionales) que interactúan con los promotores, intensificadores, silenciadores y con las regiones reguladoras. Estos factores transcripcionales pueden clasificarse en tres grupos: 1) factores generales implicados en la formación del complejo de preiniciación situado en la región TATA *box*; 2) factores específicos eritroides que pueden influir en la expresión de los genes de las globinas independientemente de la etapa del desarrollo, y 3) factores que se considera que regulan el intercambio (*switching*) de dichos genes. Todos estos factores interactúan durante el desarrollo ontogénico para producir una expresión de los genes de las globinas específica de tejido. Finalmente, la hemoglobinogénesis es un proceso íntimamente regulado por la propia concentración de hemoglobina, de manera que cuando ésta alcanza un nivel crítico, actúa directamente sobre el núcleo de los precursores eritroides inhibiendo el proceso de maduración. Si por alguna causa existe un trastorno en la síntesis de la hemoglobina (ferropenia o talasemia), se tarda más tiempo en alcanzar este límite crítico, con lo que aumenta el número de mitosis por cada ciclo y disminuye el tamaño de los eritrocitos (microcitosis). Por el contrario, si debido a un trastorno de la eritropoyesis con síntesis normal de hemoglobina este límite ya se alcanza antes de que finalice el proceso madurativo (p. ej., anemia megaloblástica), disminuye el número de mitosis por ciclo y aumenta el tamaño eritrocitario (macrocitosis).

Síntesis de hemoglobina durante el desarrollo. Se han descrito varias moléculas de hemoglobina humana estructuralmente diferentes, que son sintetizadas en diferentes etapas del desarrollo ontogénico, y que responden a las distintas necesidades de adaptación al O_2 (fig. 4.14). En el embrión, durante las primeras semanas de gestación, la síntesis de Hb está restringida a los primitivos eritroblastos del saco vitelino, que producen tres tipos de hemoglobinas mayoritarias: Hb Gower-I ($\zeta_2\varepsilon_2$), Hb Gower-II ($\alpha_2\varepsilon_2$) y Hb Portland-I ($\zeta_2\gamma_2$), y dos tipos de hemoglobinas minoritarias: Hb Portland-II ($\zeta_2\beta_2$) y Hb Portland-III ($\zeta_2\delta_2$). A partir de las 8 semanas de gestación, la eritropoyesis tiene lugar en el hígado del feto, que sintetiza, predominantemente, Hb F ($\alpha_2\gamma_2$) de la que existen dos tipos ($\alpha_2{}^G\gamma_2$ y $\alpha_2{}^A\gamma_2$) y una pequeña cantidad (> 10%) de Hb A ($\alpha_2\beta_2$). Entre las 18 semanas de gestación y el nacimiento, el hígado es progresivamente desplazado por la médula ósea, siendo éste el principal órgano hematopoyético en el momento del nacimiento. Al nacer, el nivel de Hb F oscila entre el 60 al 90%, niveles que disminuyen por debajo del 2% a los seis meses de vida. La relación entre formas Aγ y Gγ también varía con el desarrollo, de forma que durante el período fetal predomina la HbF $\alpha_2G\gamma_2$ sobre la HbF $\alpha_2A\gamma_2$. Después del nacimiento, la Hb A ($\alpha_2\beta_2$) junto con la Hb minoritaria en el adulto, la Hb A_2 ($\alpha_2\delta_2$), desplazan rápidamente a la Hb F.

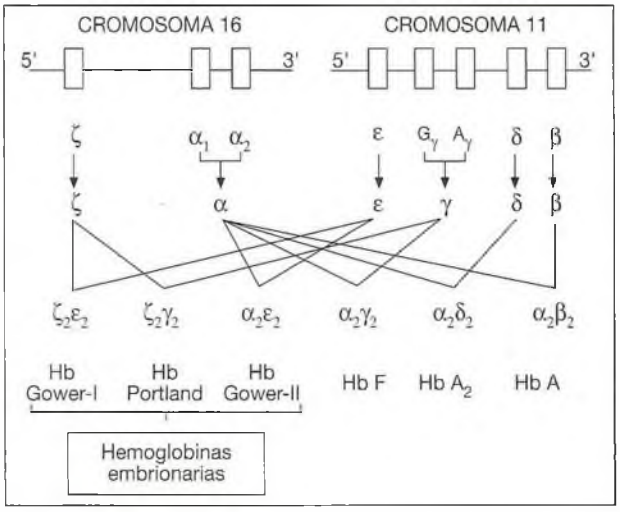


Figura 4.14. Síntesis de diferentes formas de hemoglobina a lo largo del desarrollo: fase embrionaria (Hb Gower-I, Hb Gower-II y Hb Portland), fase fetal (Hb F) y fase adulta (Hb A y Hb A_2).

En el adulto, la Hb más abundante (> 90% del total de la Hb) es la Hb A (o A_1). La relación Hb A_2:Hb A es de 1:100 en el momento del nacimiento y de 1:40 en el adulto. El valor medio de Hb A_2 en el adulto es de 2,6 ± 0,3%, valores que pueden oscilar según el método utilizado para su cuantificación. La Hb A_2 también puede observarse en el feto en pequeñas cantidades. Las diferentes cadenas polipeptídicas, que constituyen las Hb humanas, aparecen en diferentes estadios del desarrollo. Asimismo, es importante destacar las diferencias en la expresión del cluster α-globina, el cual experimenta un único cambio durante el desarrollo (embrionario → fetal/adulto), y el cluster β, que pasa por dos cambios en el momento del nacimiento (embrionario → fetal → adulto). Normalmente, los productos de los clusters α y β son expresados en cantidades iguales, manteniendo un balance en la producción de las cadenas globínicas a lo largo del desarrollo. Cuando existe una disminución en la síntesis de las cadenas α (*α-talasemia*) o de las cadenas β (*β-talasemia*), se produce un desequilibrio de cadenas globínicas, dando lugar a alteraciones eritrocitarias.

Enzimas del metabolismo

La maduración eritroblástica conlleva la desaparición de, prácticamente, todas las vías metabólicas de cualquier otra célula, de forma que el eritrocito maduro es incapaz de sintetizar lípidos o proteínas y de obtener energía a través del

ciclo del ácido tricarboxílico y la fosforilación oxidativa. Su única fuente energética es la glicólisis anaerobia, cuyo rendimiento neto es de dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa oxidada. Aunque exigua, esta fuente energética es suficiente para que el eritrocito desarrolle funciones que permiten su supervivencia en la circulación (tabla 4.3). El eritrocito presenta cuatro vías metabólicas principales: glicólisis anaerobia (vía de Embden-Meyerhof); metabolismo oxidorreductor (vía de pentosas fosfato y síntesis de glutatión), metabolismo nucleotídico, y sistema diaforásico (fig. 4.15).

Glicólisis anaerobia (vía de Embden-Meyerhof). La glucosa que difunde hacia el interior del eritrocito a partir del plasma es oxidada a piruvato mediante un proceso de glicólisis sin consumo de oxígeno (anaerobio), que consta de dos etapas: 1) transformación de la glucosa en gliceraldehído-3-fosfato (GA3P) y dihidroxiacetonafosfato (DHAP) con consumo de dos moléculas de ATP, y 2) oxidación de ambos compuestos (GA3P y DHAP) a piruvato y lactato, con formación de dos moléculas de ATP (fig. 4.15).

El rendimiento energético de esta vía metabólica es favorable debido a la total transformación de la DHAP en GA3P, con formación de cuatro moléculas de ATP en lugar de dos en la segunda etapa. La glicólisis anaerobia posee tres enzimas que, al catalizar reacciones irreversibles, constituyen etapas limitantes. Tales enzimas son la hexocinasa (HK), que transforma la glucosa en glucosa-6-fosfato (G6P), la fosfofructocinasa (PFK), que transforma la fructosa-6-fosfato en fructosa-1,6-difosfato (F1,6DP), y la piruvatocinasa (PK) que transforma el fosfoenolpiruvato (PEP) en piruvato. Debido a que la vía de Embden-Meyerhof es la única fuente energética

TABLA 4.3

Funciones del ATP eritrocitario

1. Iniciar y mantener la glucólisis
2. Sintetizar glutatión y otros compuestos de importancia funcional (fosforribosilpirofosfato)
3. Desarrollar vías alternativas de metabolismo nucleotídico
4. Mantener el hierro de la hemoglobina en estado reducido
5. Proteger a la hemoglobina, proteínas estructurales y enzimas de la oxidación
6. Mantener el transporte iónico y el contenido acuoso intraeritrocitario
7. Participar en todos aquellos procesos que contribuyen a garantizar la plasticidad de la membrana eritrocitaria, especialmente el metabolismo fosfolipídico y la función del esqueleto

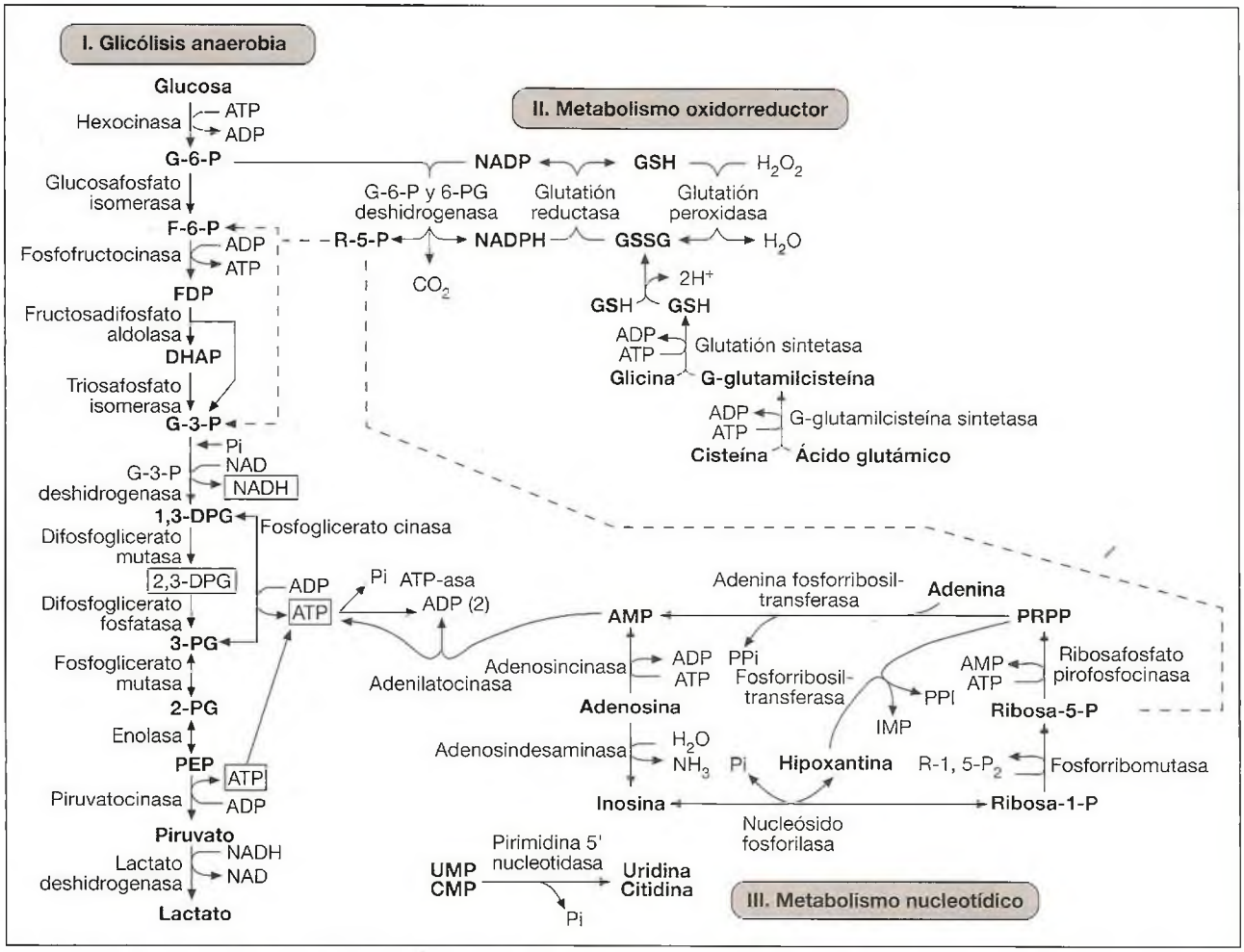


Figura 4.15. Esquema general del metabolismo eritrocitario. Vías metabólicas esenciales del eritrocito: glicólisis anaerobia; metabolismo oxidorreductor y metabolismo nucleotídico.

del eritrocito, el déficit de una de estas enzimas es por sí sólo suficiente para bloquear el funcionamiento de la misma y ser una causa de anemia hemolítica.

Una derivación muy importante de la glicólisis anaerobia es el ciclo de Rapapport-Luebering, que transforma el 1,3-difosfoglicerato (1,3-DPG) en 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG). El 2,3-DPG, mediante una reacción de desfosforilación, se transforma en 3-fosfoglicerato y, con ello, cierra el ciclo. Ambas reacciones enzimáticas son catalizadas por una misma enzima con doble función mutasa y fosfatasa[34]. Aunque la importancia de este ciclo deriva de la función reguladora del 2,3-DPG sobre la función hemoglobínica, es probable que este metabolito constituya también un reservorio energético frente a situaciones como, por ejemplo, un descenso del pH intraeritrocitario que disminuya la actividad glicolítica. En este caso, el exceso de hidrogeniones inhibe y activa, respectivamente, las funciones mutasa y fosfatasa de la enzima, transformando rápidamente el 2,3-DPG en 3-PG y, de esta forma, obtener energía. Finalmente, otra reacción importante de la glicólisis anaerobia es la catalizada por la enzima gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, ya que mantiene el NADH en estado reducido, imprescindible para mantener reducido el hierro de la hemoglobina a través de la reacción catalizada por la NADH-diaforasa o citocromo β_5-reductasa.

Metabolismo oxidorreductor. Una vía alternativa a la glicólisis anaerobia es el llamado ciclo de la hexosa monofosfato (vía de pentosas fosfato) que, en condiciones normales, deriva en un 5-10% del catabolismo de la glucosa (fig. 4.15). A diferencia de la anterior, esta vía funciona mediante consumo de oxígeno (glicólisis aerobia), de forma que su actividad puede incrementarse hasta 20 o 30 veces si se produce un brusco aumento de la oxidación intracelular. El principal factor limitante de esta vía es el cociente $NADP^+$/NADPH, y la enzima es la glucosa-6-fosfatodeshidrogenasa (G6PD), que precisa del cofactor NAD^+, pero que, a la vez, es intensamente inhibida por el NADPH[35]. Dado que en el desarrollo de su función (transporte de oxígeno molecular) el eritrocito suele hallarse sometido a agresiones oxidantes, y el NADPH es, por sí mismo, insuficiente para amortiguarlas, la célula dispone de un compuesto (glutatión) que, en estado reducido (GSH), se encarga de realizar esta importante función. El glutatión es un tripéptido sintetizado por el propio eritrocito por medio de dos enzimas (glutatión sintetasa y glutamilcisteína sintetasa) que precisan consumo de ATP. Bajo forma reducida (GSH), y mediante una reacción catalizada por la enzima glutatión peroxidasa (GP), elimina el exceso de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) que pueda producirse como consecuencia de la actividad superóxido dismutasa (SOD). El nivel de GSH, generalmente muy elevado, se mantiene gracias al NADPH (formado en la vía de pentosas fosfato) y a la actividad de la enzima glutatión reductasa. El poder reductor del eritrocito reside, por tanto, en su capacidad para regenerar el NADPH, preciso a su vez para mantener el valor de GSH. El déficit congénito de G6PD, que es la enzimopatía más frecuente, comporta, a través de este mecanismo, una gran disminución del poder reductor eritrocitario. Dado que el glutatión no se difunde a través de la membrana eritrocitaria, su concentración se mantiene gracias a un sistema de síntesis en el que intervienen dos enzimas: γ-glutamilcisteína sintetasa (GCS) y glutatión sintetasa (GS). Este sistema metabólico consume ATP procedente de la glicólisis anaerobia.

Metabolismo nucleotídico. Junto con las enzimas glicolíticas, el eritrocito dispone de otras enzimas que también contribuyen al mantenimiento del ATP, y que actúan sobre el llamado *pool* de nucleótidos adenílicos (principalmente, ATP y, en mucha menor proporción, ADP y AMP). Entre ellas destacan la adenilatocinasa (AK), la ATPasa, la adenosina desaminasa (ADA) y la pirimidina 5'-nucleotidasa (P5'N).

La AK y la ATPasa contribuyen al reciclaje de ADP a partir del ATP generado en la vía glicolítica. La ADA transforma adenosina en inosina, y contribuye a su eliminación (hipoxantina-IMP) o a su reciclaje en la vía de pentosas fosfato (ribosa-1-P) (fig. 4.15). La AK y la ADA utilizan el mismo sustrato (adenosina), lo que explica que tanto el déficit de AK como el exceso de ADA tengan una expresividad clínica similar, derivada del insuficiente reciclaje de AMP y del descenso de la concentración de ATP. Finalmente, la P5'N es una enzima que interviene en la degradación del ácido ribonucleico (RNA), y su déficit produce una acumulación intraeritrocitaria de nucleótidos que interfiere tanto en la degradación normal del RNA como en la actividad de las enzimas clave de la glicólisis (HK, PK y PFK), disminuyendo la producción de ATP.

Sistema diaforásico. El mantenimiento de la función respiratoria de la hemoglobina requiere que el hierro hemínico se halle en estado reducido. A ello contribuye la enzima diaforasa o metahemoglobina reductasa (citocromo β_5-reductasa). El eritrocito normal posee dos sistemas diaforásicos: principal y secundario (fig. 4.16). En el primero, interviene la enzima citocromo β_5-reductasa que utiliza el NADH (glicólisis), y en el segundo, otra metahemoglobín-reductasa, que utiliza el NADPH (vía de pentosas fosfato). La citocromo β_5-reductasa es una enzima presente en gran número de células del organismo, que cataliza la transferencia de electrones desde el NADH al citocromo β_5, que los cede directamente al hierro hemínico, manteniendo así su estado reducido[36]. La diaforasa, que utiliza el NADPH como sustrato, carece de aceptor fisiológico de electrones, por lo que permanece inactiva en condiciones normales. No obstante, ciertos colorantes inocuos como, por ejemplo, el azul de metileno, pueden actuar de aceptores «no fisiológicos» de electrones; de tal forma que, en caso de déficit del sistema diaforásico principal, pueden emplearse de forma terapéutica para reducir el exceso de metahemoglobina y eliminar la cianosis.

ERITROPOYESIS

La eritropoyesis es el proceso por el cual se forman los eritrocitos, y se inicia hacia el día 15 a 18 de la vida embrionaria en el saco vitelino (fase mesoblástica), formándose eritrocitos nucleados. A partir del día 35 y hasta el 42, aproximadamente, la eritropoyesis tiene lugar en el hígado y el bazo (fase hepatoesplénica), y se inicia la formación de eritrocitos anucleados con un contenido prácticamente absoluto de hemoglobina fetal (HbF). Finalmente, después del nacimiento y durante toda la vida adulta, la eritropoyesis se aloja de forma definitiva, aunque no irreversible, en la cavidad medular de los huesos (fase mieloide), especialmente en el esqueleto axial, vértebras, cráneo y extremos proximales (epífisis) de los huesos largos (fig. 4.17). A partir de los 6 meses de edad, los eritrocitos son los propios de un individuo adulto normal, y su contenido mayoritario es Hb A con una pequeña fracción residual de HbF (< 1%) y Hb A_2 (2,5-3,5%). Conforme

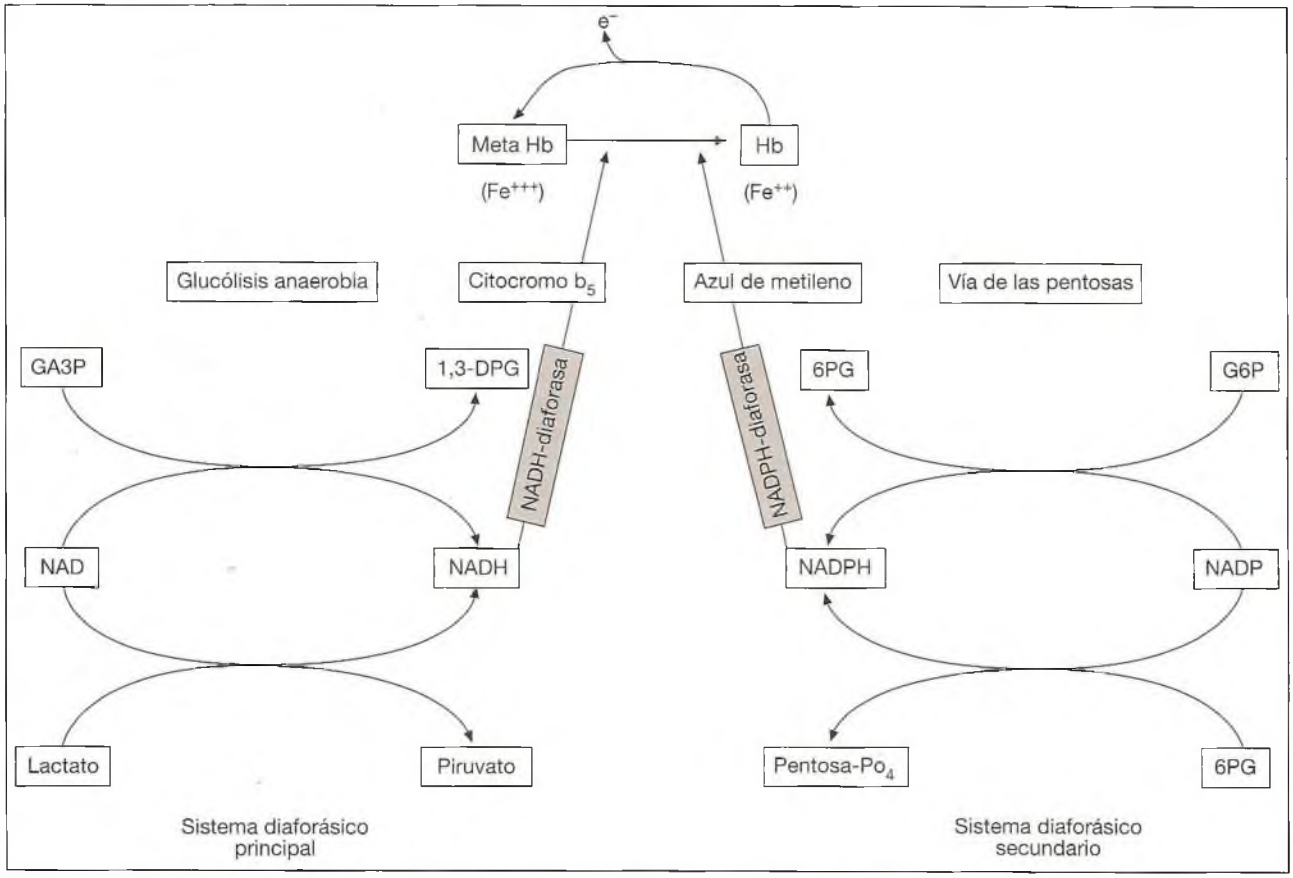


Figura 4.16. Sistemas diaforásicos del eritrocito normal. El sistema fisiológico (izquierda) utiliza NAD y la enzima es la citocromo b_5 reductasa. El sistema de la derecha es inactivo en condiciones fisiológicas pero puede activarse en presencia de aceptores de electrones no fisiológicos como, por ejemplo, el azul de metileno.

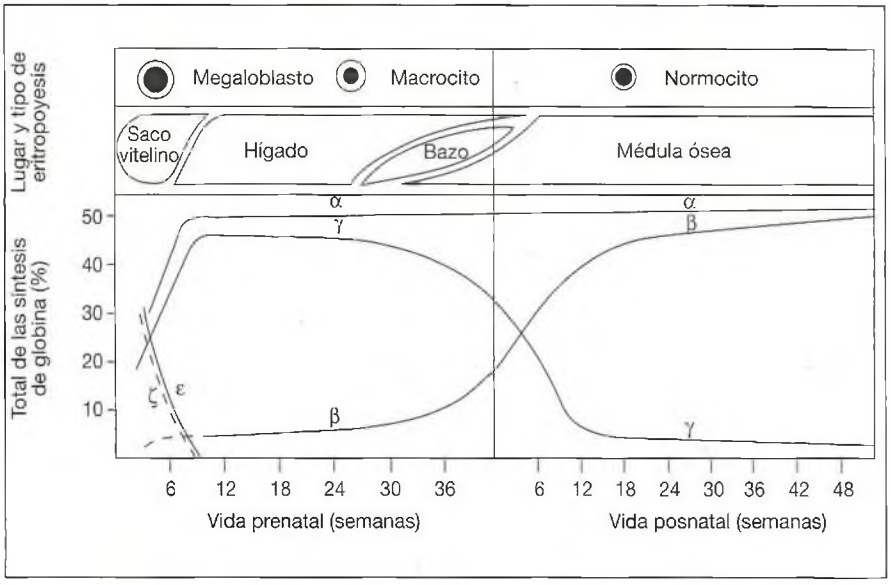


Figura 4.17. Evolución de la hematopoyesis humana durante el desarrollo y las etapas de hemoglobinogénesis.

avanza la edad, el tejido hematopoyético es reemplazado por células grasas, aunque en ciertas circunstancias como, por ejemplo, un estímulo eritropoyético intenso o un trastorno mieloproliferativo, puede producir una reversión del fenómeno y un gran aumento de la regeneración eritroblástica[37].

La eritropoyesis mieloide se desarrolla en dos compartimentos funcionales y secuenciales en el proceso de diferenciación, constituidos por células progenitoras y células precursoras, respectivamente. Las células progenitoras derivan directamente de la llamada célula madre pluripotente (CMP), y debido a su elevado grado de inmadurez, no pueden ser identificadas morfológicamente como pertenecientes a la serie eritroide. La dotación de estas células se mantiene siempre constante a lo largo de toda la vida gracias a un mecanis-

mo de autoduplicación y, periódicamente, algunas de ellas inician un proceso de diferenciación por el cual adquieren un compromiso madurativo hacia la línea eritroblástica. A partir de este momento, se las conoce como progenitores comprometidos (*commited stem-cells*), ya que se transforman indefectiblemente en precursores eritroides (eritroblastos) y, finalmente, en eritrocitos maduros. Las características morfológicas de la CMP, muy similares a las de un linfocito maduro, hacen que su presencia en sangre periférica, demostrada mediante técnicas de cultivo *in vitro,* pase desapercibida. En el proceso de la eritropoyesis, la primera célula progenitora comprometida hacia la serie mieloide es multilineal (granulocito/eritrocito/macrófago/megacariocito), se conoce como CFU-GEMM y se diferencia primero a BFU-E (unidad formadora de agregados) y más tarde a CFU-E (unidad formadora de colonias). Las BFU-E producen agregados de colonias de gran tamaño y aspecto coalescente, y cada BFU-E es capaz de formar una colonia con más de 1.000 células eritroides, cuya proliferación parece estar controlada por factores de crecimiento derivados de otras células sanguíneas normales, en especial de linfocitos y macrófagos. Las CFU-E pueden producir colonias individuales de hasta 100 células y, por tanto, su tamaño es mucho menor que las BFU-E. Las CFU-E son sensibles a la eritropoyetina (Epo), y esta sensibilidad aumenta con la diferenciación hacia eritroblastos. Finalmente, el progenitor CFU-E se transforma en el primer precursor o célula identificable morfológicamente como de línea eritroide, conocida como proeritroblasto mediante un proceso secuencial en el que intervienen tres etapas madurativas fundamentales: temprana, intermedia y tardía (fig. 4.18).

La *etapa temprana* se inicia con el proeritroblasto y termina con el eritroblasto basófilo. Ambas células se caracterizan por su gran tamaño (300 a 800 fL) y la cromatina nuclear poco densa (predominio de eucromatina). En el proeritroblasto es característica la intensa basofilia del citoplasma y la presencia de uno o dos nucléolos. El eritroblasto basófilo carece de nucléolos, y el color del citoplasma es algo más oscuro que el del proeritroblasto. En ningún caso el citoplasma de estas células contiene gránulos u organelas reconocibles mediante el microscopio óptico.

La *etapa intermedia* contiene eritroblastos de menor tamaño, núcleo con cromatina más densa (predominio de heterocromatina) y algo de hemoglobina en el citoplasma, lo que le confiere un color peculiar mezcla de rojo y azul (*eritroblastos policromáticos*).

Finalmente en la *etapa tardía*, el núcleo celular disminuye aún más de tamaño y se hace picnótico. En el citoplasma predomina el color rosado sobre el azul, debido a la intensa hemoglobinización. Por ello, a los eritroblastos tardíos se les conoce como ortocromáticos o eosinófilos. Esta secuencia termina cuando el núcleo picnótico del eritroblasto ortocromático es expulsado por extrusión de la célula, dando origen

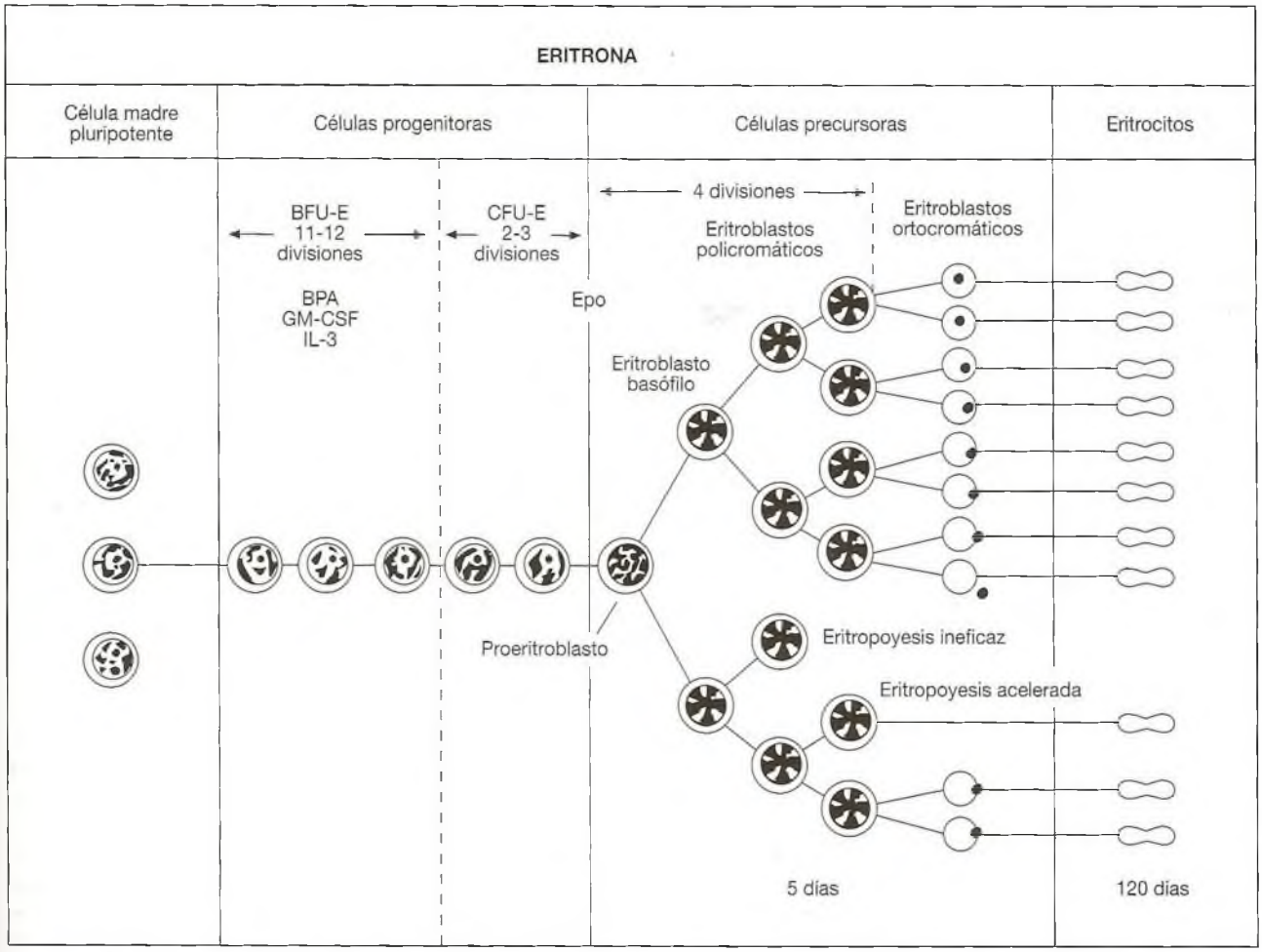


Figura 4.18. Esquema general de la eritropoyesis.

a un reticulocito inmaduro (reticulocito tipo I), que permanece aún en la médula ósea durante dos o tres días. Este reticulocito se caracteriza por su gran tamaño (150 a 180 fL) y elevado contenido en RNA. Debido a ello, mediante coloración de May-Grünwald-Giemsa (MGG), el citoplasma de esta célula anucleada adquiere una tonalidad azulada y suele contener escaso punteado basófilo.

En el momento de expulsar el núcleo, el reticulocito tipo I (neocito) contiene dos tercios de su contenido final de hemoglobina, por lo que la síntesis de ésta continúa durante dos o tres días hasta completarse. Ello conlleva una notable reducción del contenido de RNA y mitocondrias del citoplasma, y una disminución del volumen celular, que se aproxima al del eritrocito maduro circulante. En este momento, el reticulocito, ya prácticamente maduro, atraviesa la pared sinusoidal de los capilares de la médula ósea y penetra en la circulación. Los reticulocitos circulantes mantienen vestigios de RNA durante unas 24 horas más y, finalmente, se transforman en eritrocitos maduros, lo que se pone de manifiesto por la total desaparición de RNA. Cuando, por alguna razón, existe una eritropoyesis acelerada o de estrés, un número variable de reticulocitos tipo I (que depende del grado de anemia o hematocrito) abandonan precozmente la médula ósea, dando lugar a la característica policromasia o aparición en la sangre de eritrocitos de gran tamaño y citoplasma ligeramente azul, denominados reticulocitos tipo I. En su conjunto, la eritropoyesis comprende cuatro divisiones mitóticas sucesivas, que producen entre 14 y 16 eritrocitos por cada proeritroblasto, pero debido a que el 5-10% de los eritroblastos mueren antes de completar su proceso madurativo (eritropoyesis ineficaz fisiológica), esta cifra siempre es algo inferior. La eritropoyesis ineficaz fisiológica parece desempeñar un importante papel en la homeostasis de la eritrona, tanto en condiciones normales como en diferentes situaciones patológicas.

La maduración del núcleo (síntesis de DNA) y la del citoplasma (síntesis de hemoglobina) se realizan siempre de forma sincronizada, y cuando no es así, como sucede, por ejemplo, en las anemias carenciales y otros trastornos madurativos, los eritroblastos desaparecen en la propia médula ósea antes de llegar a madurar (*eritropoyesis ineficaz patológica*) y aparece la anemia. Con todo, la médula ósea tiene una capacidad eritropoyética muy elevada, pudiendo generar entre 200 y 250 mil millones de eritrocitos cada día, cantidad suficiente para cubrir las necesidades respiratorias y metabólicas de un organismo adulto normal. En general, ante una anemia, el aumento de la concentración de Epo en sangre estimula la producción de CFU-E y aumenta el número de precursores eritroides en fase de maduración. Debido a ello, el tiempo de maduración del normoblasto se reduce, y se produce una mayor liberación de reticulocitos a la circulación (reticulocitosis). La intensidad de estos cambios depende de varios factores, entre los que destacan la integridad funcional de la médula ósea, la gravedad y duración de la anemia y la cantidad de hierro disponible.

Progenitores eritroides

Los progenitores eritroides son el conjunto de células hematopoyéticas morfológicamente indiferenciadas (células madre) pero comprometidas en la maduración eritroide. Su presencia, tanto en la médula ósea, como en sangre periférica, puede ponerse de manifiesto mediante cultivo *in vitro* en medio apropiado. Los progenitores eritroides se clasifican en tres grandes grupos: la unidad granulo-eritroide-macrofágica-megacariocítica (GEMM), la unidad formadora de colonias eritroides grandes (BFU-E), y la unidad formadora de colonias eritroides pequeñas (CFU-E). Las células de la BFU-E son más indiferenciadas y con mayor capacidad proliferativa que las de la CFU-E. En la tabla 4.4 se resumen algunas de las principales diferencias existentes entre ambos tipos de progenitores. La BFU-E es un progenitor inmaduro próximo a la célula madre pluripotente. En presencia de Epo y de otros factores capaces de actuar sobre progenitores muy inmaduros, como por ejemplo la interleucina-3 (IL-3), el activador de colonias granulomonocíticas (GM-CSF), la trombopoyetina y el factor activador de la célula madre pluripotente (SCF), la BFU-E prolifera de manera que en unos 7 días se transforma en CFU-E y finalmente, después de otros 7 días, en eritroblastos que forman múltiples colonias visibles mediante cultivo *in vitro*. La CFU-E es el antecesor inmediato del proeritroblasto, y bajo la influencia de pequeñas concentraciones de Epo se transforma en una semana, aproximadamente, en colonias de eritroblastos intensamente hemoglobinizados (fig. 4.19).

TABLA 4.4

Características de los progenitores eritroides

	GEMM	BFU-E	CFU-E
CAPACIDAD AUTODUPLICATIVA	++	0	0
DÍAS DE APARICIÓN EN EL CULTIVO	14	14	7
CÉLULAS POR COLONIA	–	30.000	10-80
CIRCULACIÓN SANGUÍNEA	+	+	0
RESPUESTA FRENTE A FACTORES DE CRECIMIENTO			
G-CSF, IL-6, IL-1	0	0	0
GM-CSF, IL-3	+	+	0
Eritropoyetina	+	+	++
Insulina, IGF	0	0	+
TGF β_1	+	+	0
RECEPTORES DE SUPERFICIE			
CD 33	+	+	0
CD 34	++	++	0
HLA-DR	++	++	+
Glicoforina A	0	0	+
Eritropoyetina (R-Epo)	+	+	++
Transferrina (TfR)	+	+	++
Grupos Rh y ABH	0	0	+
Adesinas	+	++	+/–

Precursores eritroides

Son las células propias de la línea eritroide en diferentes estadios de maduración, que pueden identificarse fácilmente mediante la observación morfológica de la médula ósea. El primer precursor eritroide es el proeritroblasto que, tras cuatro o cinco divisiones mitóticas, se transforma en eritrocito maduro. El ritmo de la eritropoyesis es regulado por la eritropoyetina (Epo), glicoproteína de 35 kDa sintetizada por las células intersticiales peritubulares del riñón (v. más adelante). Bajo el influjo de la Epo, cada proeritroblasto inicia un proceso de

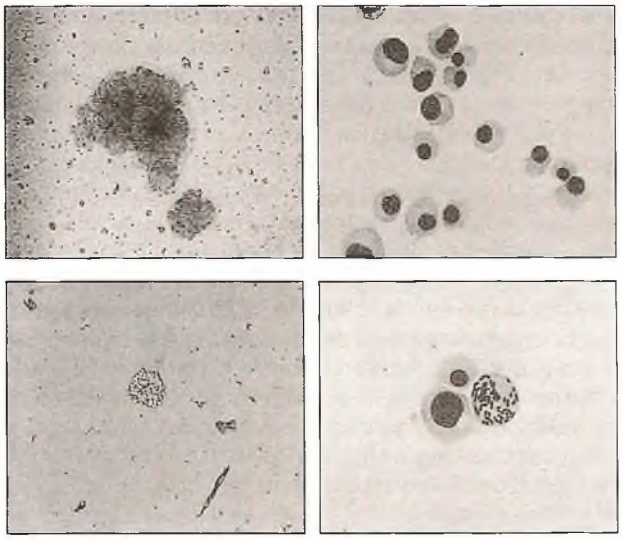


Figura 4.19. Imágenes de las colonias eritroides obtenidas mediante cultivo de progenitores hematopoyéticos.

división mitótica por el cual da lugar a dos nuevas células idénticas o inicia el proceso de maduración (eritroblasto basófilo, policromático y ortocromático) hasta transformarse en eritrocito maduro (fig. 4.18). Habitualmente, desde el proeritroblasto hasta el eritroblasto ortocromático sólo tienen lugar tres divisiones mitóticas, siendo el intervalo intermitótico de 16 horas aproximadamente; por tanto, el proceso se completa en 48 horas. Para que el proeritroblasto se transforme en reticulocito se requieren 3-5 días, y los reticulocitos tardan aún 1-2 días en abandonar la médula ósea. En conjunto, el tiempo necesario para la formación de un eritrocito maduro es de 5 a 7 días. Existen dos circunstancias que van acompañadas de variaciones en el número e intervalo de la mitosis y que, por tanto, pueden alterar el rendimiento de la eritropoyesis. Una de ellas es el aborto medular de eritroblastos o eritropoyesis ineficaz, y la otra es el acortamiento del intervalo intermitótico, con liberación precoz de los reticulocitos o desviación reticulocitaria. Aunque en condiciones normales siempre existe cierto grado de aborto medular (eritropoyesis ineficaz fisiológica), cuando éste aumenta por encima de determinado valor (diseritropoyesis), puede constituir una causa de anemia. El acortamiento del intervalo intermitótico se produce cuando aumenta el número de mitosis como consecuencia de un estado de hiperregeneración eritroblástica, aunque puede darse también en casos de insuficiencia medular. En ambas circunstancias, se produce una salida precoz de reticulocitos a la circulación, pero mientras en la primera se aprecia un aumento significativo del número de reticulocitos circulantes (reticulocitosis), en la segunda su valor absoluto se halla generalmente disminuido, aunque su valor relativo, en función del total de eritrocitos, es superior al normal (desviación reticulocitaria). Ambos fenómenos se ponen de manifiesto por la presencia de eritrocitos grandes (macrocitos) y ligeramente azulados (policromasia) cuando se observa una extensión de sangre teñida mediante MGG.

La eritropoyesis normal es el resultado de un equilibrio entre maduración nuclear y citoplasmática de los precursores eritroides o eritroblastos. Para ello, es imprescindible la presencia de un conjunto de factores madurativos, la mayoría de los cuales deben ser aportados por la dieta (tabla 4.5). Para la maduración citoplasmática, es decir, la síntesis de hemoglobina, el factor esencial es el hierro, aunque resulta también imprescindible la piridoxina o vitamina B_6. Para la maduración del núcleo, es decir, la síntesis del DNA, se requieren dos factores vitamínicos diferentes; el folato (o ácido fólico) y la cobalamina (o vitamina B_{12}). El déficit de estos factores constituye la base de las llamadas anemias carenciales. La maduración del núcleo se inicia en la etapa de proeritroblasto y cesa en la de eritroblasto ortocromático, con la expulsión por extrusión de un residuo picnótico. Durante este proceso, el núcleo va aumentando su contenido en heterocromatina, y se condensa progresivamente hasta la picnosis, con pérdida total de sus funciones biológicas durante la etapa de eritroblasto ortocromático. Por el contrario, la síntesis de hemoglobina es poco intensa durante las fases iniciales de la maduración eritroblástica (proeritroblasto y eritroblasto basófilo), mientras que se intensifica a partir de la etapa de eritroblasto policromático hasta la de reticulocito. El reticulocito, que ya es una célula anucleada, posee, junto a un elevado contenido hemoglobínico, abundantes ribosomas y mitocondrias, que desaparecen totalmente con la maduración a eritrocito. Antes de salir a la sangre periférica, los reticulocitos permanecen entre 2 y 3 días en la médula ósea, siendo liberados posteriormente a la circulación por un mecanismo todavía desconocido, aunque se cree que está regulado por la Epo. Inmediatamente después de salir a la sangre y antes de transformarse en eritrocito maduro, el reticulocito tipo I (R1) o inmaduro posee una forma esferoidal con superficie invaginada, consecuencia de la reciente expulsión del núcleo eritroblástico (fig. 4.19). Una vez en la sangre, la maduración de los reticulocitos a eritrocitos se completa en unas 24-48 horas (fig. 4.20).

TABLA 4.5

Principales factores que intervienen en la maduración eritroblástica

MADURACIÓN NUCLEAR
Nucleótidos (dATP, dGTP, dCTP y dUTP)
Enzimas
DNA-polimerasa
Timidilato-sintetasa
Cofactores
Folato (tetrahidrofolato)
Vitamina B_{12} (cobalamina)
MADURACIÓN CITOPLASMÁTICA
Hierro
Fosfato de piridoxal (vitamina B_6)
Aminoácidos

Control de la eritropoyesis

En el control de la eritropoyesis intervienen diferentes factores entre los que destacan la IL-3, trombopoyetina, GM-CSF, SCF y eritropoyetina (Epo). La Epo es una citocina de naturaleza glicoproteica, segregada principalmente por unas células (fibrocitos tipo I) que rodean los túbulos renales y, en menor cantidad, por otros tejidos, como el hepático (hepatocitos y células no parenquimatosas), el nervioso (astrocitos) y el hematopoyético (progenitores eritroides). En condiciones de hipoxia, la síntesis de Epo puede llegar a aumentar hasta

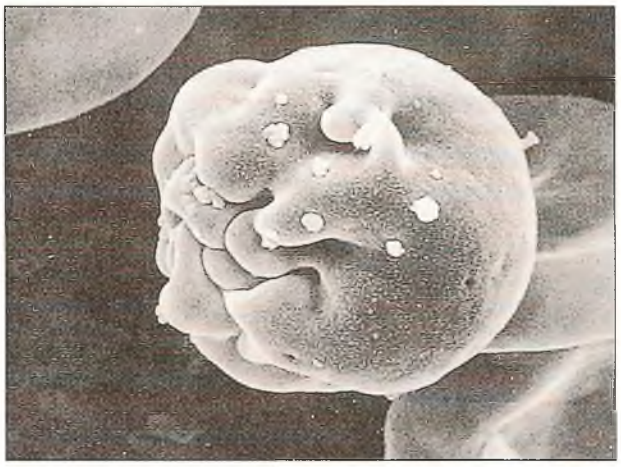


Figura 4.20. Imagen de reticulocito inmaduro (tipo I) obtenida mediante microscopio electrónico de barrido.

1.000 veces, lo que se traduce en un gran aumento de su concentración en plasma[38,39].

La síntesis de Epo depende de la presión parcial de oxígeno (PO_2) de los tejidos y, en especial, de la que existe en las células intersticiales que rodean el túbulo renal. Esta PO_2 varía, a su vez, en función de factores diversos, como el flujo sanguíneo, la concentración de hemoglobina y su afinidad o grado de saturación por el oxígeno. Por ello, cuando disminuye la masa eritrocitaria o el oxígeno intracelular, se produce un aumento de la síntesis de Epo. El mecanismo por el cual la hipoxia induce la síntesis de Epo se relaciona con un fenómeno de inducción genética por parte del oxígeno sobre la síntesis de la hormona, de manera que ésta es tanto mayor cuanto mayor es la intensidad de la hipoxia[40,41]. Además de la hipoxia, la expresión del gen de la Epo puede estar modulada por otros factores entre los que destacan ciertos metales de transición, como el cobalto (Co), níquel (Ni) y manganeso (Mn), o sustancias diversas, como el monóxido de carbono, óxido nítrico, peróxido de hidrógeno o citocinas relacionadas con los procesos inflamatorios (TNF-α e IL-1, principalmente). El gen que codifica la síntesis de Epo presenta tres segmentos relacionados directamente con la síntesis de la hormona: región promotora (*5' promoter*), el primer intrón (colindante de la región promotora) y una zona cercana a la región de poliadenilación llamada región activadora 3' (*3' enhancer*). En caso de hipoxia, se sensibiliza una flavoproteína hemínica (citocromo b) intracelular que a través de un mecanismo relativamente complejo, estabiliza otra proteína de 120 kDa, decisiva para la inducción del gen Epo, conocida con el nombre de *factor 1 inducible por la hipoxia* (*hypoxia-inducible factor 1*) o HIF-1. El HIF-1, sólo estable en condiciones de hipoxia, interacciona con la región activadora 3' (*3' enhancer*) del gen de la Epo y, mediante el concurso de otras proteínas (HNF-4 y P300), activa la región promotora (*5' promoter*) induciendo la transcripción del RNAm necesario para la síntesis de Epo[41,42]. Cabe destacar que los mismos efectores que actúan sobre el gen Epo en condiciones de hipoxia, pueden hacerlo también sobre otros genes induciendo la transcripción de RNAm. Entre éstos debe mencionarse especialmente el gen que codifica la síntesis del factor de crecimiento endotelial (VEGF), cuya inducción explica el desarrollo de neovascularización en los tumores cuando, debido al gran consumo de oxígeno, se genera una situación de hipoxia local. Otros genes también inducibles por hipoxia son los que codifican ciertas enzimas de la glicólisis, hemooxigenasa y transferrina.

Una vez sintetizada, la Epo actúa directamente sobre los progenitores de la línea eritroide (BFU-E y CFU-E), controlando su proliferación, diferenciación y supervivencia. Para ello, junto con su acción mitogénica, disminuye la apoptosis celular y se activa la diferenciación de las CFU-E a proeritroblastos. Junto a ello, aumenta también la expresión de receptores de la transferrina (R-Tf) en los eritroblastos y favorece su maduración final a eritrocitos. En definitiva, la Epo contribuye de forma decisiva al mantenimiento de la eritropoyesis normal y a su expansión en caso de necesidad, como sucede en la anemia. El mecanismo de acción de la Epo sobre las líneas celulares inmaduras se ha podido conocer gracias al empleo de modelos de eritroleucemia experimental, hígado fetal y megacariocitos. Según ello, la Epo se une a receptores celulares específicos (R-Epo) situados en la membrana de las células eritroides inmaduras[43]. El progenitor eritroide con mayor número de moléculas R-Epo es una célula intermedia entre la CFU-E y el proeritroblasto, y cuando la Epo actúa sobre ella se producen tres señales simultáneas: la transcripción de los genes de globina, la síntesis de receptores de la transferrina (R-Tf) y la síntesis de proteínas de membrana. La unión de la Epo a su receptor va seguida de una rápida internalización, degradación de la hormona e inicio de los efectos conocidos de la Epo sobre la eritropoyesis: transformación de CFU-E a proeritroblasto, activación de la capacidad mitótica de todos los precursores eritroides, inicio y mantenimiento de la maduración de los precursores eritroides mediante estímulo constante de la hemoglobinogénesis, y protección de progenitores y precursores eritroides frente a la apoptosis[44]. El mecanismo íntimo de cómo la Epo induce la puesta en marcha de todos estos procesos no es aún del todo bien conocido, aunque se considera que existe la intervención de sistemas fosforilasa-cinasa. Así, la unión de la Epo al receptor de membrana presente en los progenitores eritroides activaría una tirosín cinasa (JAK2) que, a su vez, induciría la fosforilación de diversas proteínas, incluido el propio receptor, y la puesta en marcha de diversos sistemas metabólicos entre los que podrían implicarse la Ras/MAP cinasa, la fosfatidilinositol 3-cinasa y los factores de transcripción STAT[44,45]. El conjunto de procesos implicados en el estímulo eritropoyético por la hipoxia se esquematiza en la figura 4.21, y el conjunto de cambios bioquímicos y moleculares producidos por la acción de la Epo sobre la maduración eritroblástica se resume en la tabla 4.6.

ENVEJECIMIENTO Y MUERTE DEL ERITROCITO

El eritrocito maduro se halla desprovisto de mecanismos de síntesis, por lo que desde que se constituye como tal a partir del reticulocito, inicia un proceso de envejecimiento progresivo que culmina, aproximadamente, a los 120 días de su salida de la médula ósea, con su eliminación de la circulación por los macrófagos del bazo y la médula ósea. Los mecanismos que intervienen en el envejecimiento fisiológico eritrocitario no son todavía bien conocidos aunque, al parecer, tienen carácter multifactorial (tabla 4.7). En su conjunto, contribuyen a que el eritrocito pierda la capacidad de deformación, atraviese con dificultad la microcirculación y sea finalmente eliminado por el SMF. Este proceso de muerte fisiológica del eritrocito se produce diariamente en 1/120

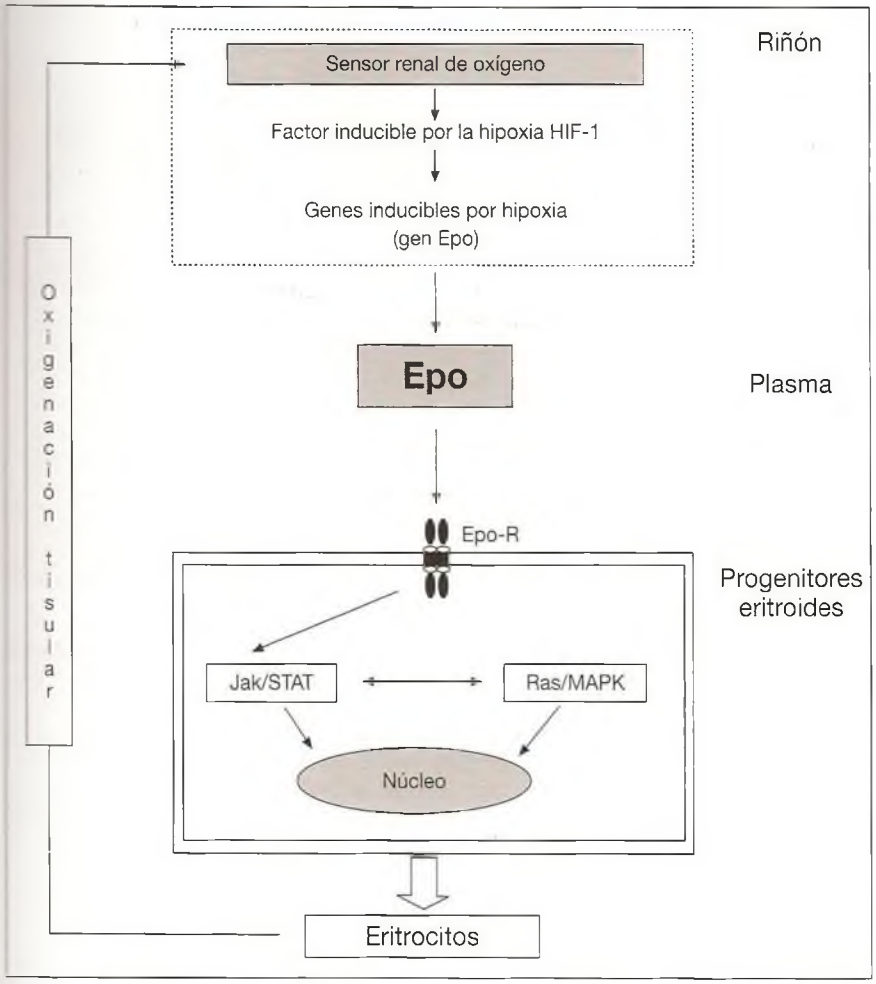


Figura 4.21. Esquema del ciclo de la eritropoyetina (Epo). Cuando disminuye la oxigenación hística (hipoxia) se activa un *sensor renal* que genera la formación de un *factor de transcripción (HIF-1)*. Esta proteína (junto a otras) actúa directamente sobre diversos genes inducibles por la hipoxia, uno de los cuales es el de la Epo. La inducción del gen Epo por el HIF-1 estimula la síntesis de la hormona. La Epo llega a los progenitores eritroides a través del plasma donde se une a un receptor específico (R-Epo) y desencadena un conjunto de reacciones metabólicas que estimulan la eritropoyesis. Por mecanismo de retroalimentación, cuando cesa la hipoxia deja de activarse el sensor renal y cesa el estímulo eritropoyético.

TABLA 4.6

Efectos secuenciales de la eritropoyetina en el proceso de diferenciación eritroide

1. Aumento de la permeabilidad al calcio (Ca^{++})
2. Internalización del receptor de eritropoyetina (R-Epo)
3. Aumento de la síntesis de RNA
4. Entrada de glucosa en la célula
5. Aumento de la transcripción de los genes α y β
6. Aumento de los receptores de transferrina (TfR)
7. Aumento de la síntesis de hemoglobina
8. Aumento de la síntesis de banda 3 y proteína 4,1

parte de la masa eritrocitaria, la cual es normalmente restituida por la eritropoyesis, manteniendo así la homeostasis hemoglobínica del organismo[44].

En los macrófagos (células del SMF), el hierro procedente de la degradación hemoglobínica es reutilizado para la eritropoyesis, previo transporte a la medula ósea mediante la transferrina. La degradación del grupo hemo origina diferentes catabolitos, siendo su producto final la bilirrubina, cuya formación se produce mediante un conjunto de reacciones que se resumen en la figura 4.22: apertura del anillo de la protoporfirina IX con formación de verdoglobina; pérdida del hierro, con formación de biliverdiglobina, pérdida de la globina con formación de biliverdina, y reducción del metenilo con formación final de bilirrubina.

La bilirrubina abandona las células del SMF y pasa a la sangre, y es transportada por la albúmina al hígado donde, mediante una reacción catalizada por la difosfatoglucoronil transferasa (UDP-GT), se une al ácido glucurónico. La bilirrubina conjugada (o esterificada) es excretada por la bilis y vertida al intestino, donde finalmente es transformada por las bacterias saprófitas en estercobilinógeno, que se elimina con las heces. Parte del estercobilinógeno se reabsorbe para, después de circular por la sangre, eliminarse por la orina como urobilinógeno.

La concentración normal de bilirrubina en plasma siempre es inferior a 1 mg/dL (0-8 µmol/L) y, prácticamente, se halla toda en forma libre o no conjugada. El método normalmente empleado para determinar la bilirrubina, tanto mediante procedimientos manuales como automáticos, es el de Van den Bergh, basado en medir el grado de reacción que se produce entre la bilirrubina y un reactivo diazólico (reacción directa). Existen situaciones en las que la bilirrubina no reacciona con el reactivo diazólico y es necesario añadir un activador (reacción indirecta). En la práctica clínica se admite que la bilirrubina determinada mediante la reacción directa corresponde a la forma esterificada por el hígado (bilirrubina conjugada), mientras que la determinada mediante la reacción indirecta corresponde a la forma no esterificada (bilirrubina no conju-

TABLA 4.7

Cambios eritrocitarios debidos al envejecimiento

1. **Disminución de las actividades enzimáticas y glicólisis**
   - Piruvatocinasa (PK) hexocinasa (HK)
   - Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD)
   - 6-fosfogluconato deshidrogenasa (6PGD)
   - ATP y 2,3-DPG
2. **Cambios estructurales del eritrocito**
   - Disminución de la ubiquitina y glutatión reducido (GSH)
   - Disminución del contenido catiónico (sodio y potasio) y acuoso
   - Aumento del calcio intracelular
3. **Cambios en la membrana**
   - Disminución de lípidos y de la carga superficial
   - Disminución de las glicoforinas y otras proteínas integrales
   - Disminución de la actividad ATP-asa
   - Disminución de la proteína 4,1b con aumento de la relación 4,1a/4,1b
   - Aumento de la peroxidación con formación de polímeros intramembranosos
   - Formación de agregados de espectrina-hemoglobina
   - Desnaturalización de la banda 3 con formación de polímeros
4. **Cambios en la hemoglobina**
   - Aumento de metahemoglobina y Hb A_2
   - Aumento de la afinidad por el oxígeno
   - Aumento de glicohemoglobina
5. **Cambios en las propiedades físicas**
   - Aumento de la densidad celular
   - Disminución de la deformabilidad
   - Aumento de la fragilidad osmótica
   - Aumento de la viscosidad
6. **Disminución del tamaño celular**

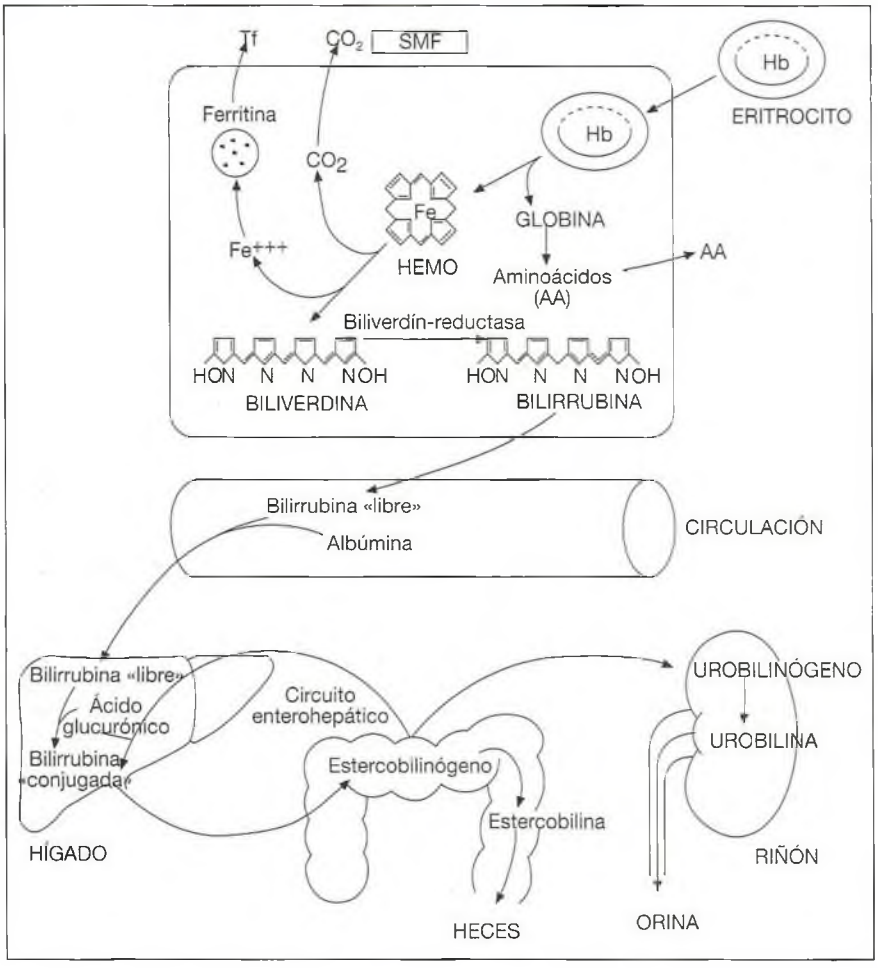


Figura 4.22. Esquema de la degradación o catabolismo de la hemoglobina.

gada). Asimismo, cuando la concentración de bilirrubina aumenta a expensas de la forma o fracción conjugada, es debido a que su origen es hepático (por regurgitacion), mientras que cuando lo hace a expensas de la fracción no conjugada es prácticamente siempre una consecuencia del hipercatabolismo de la hemoglobina a nivel del SMF (hemólisis).

Un aumento de la fracción no conjugada también puede ser el resultado de factores capaces de modificar la actividad UDP-GT. Así, ésta puede estar modificada por efecto de ciertos medicamentos (fenobarbital), hormonas (cortisona, tiroxina) o defectos congénitos. Hasta la actualidad, se han descrito dos defectos congénitos de la enzima UDP-GT: un déficit

total de la misma con marcada ictericia e hiperbilirrubinemia no conjugada (síndrome de Crigler-Najjar tipo I), y un déficit parcial con ligera ictericia de carácter oscilante e hiperbilirrubinemia de predominio no conjugado (síndrome de Crigler-Najjar tipo II y enfermedad de Gilbert). Todos estos trastornos se transmiten con carácter autosómico recesivo, y el fenobarbital, al inducir la actividad enzimática, puede utilizarse para reducir la intensidad de la ictericia.

Finalmente, existe otro trastorno del metabolismo de la bilirrubina que se transmite con carácter autosómico dominante, y cuyo mecanismo aún es desconocido. Este trastorno se conoce con el nombre de enfermedad de Dubin Johnson, y va acompañado de un aumento variable de bilirrubina conjugada y la eliminación de coproporfirina I por la orina.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bull B, Beutler E. Morphology of the Erythron and Composition of the Erythrocyte. En: Beutler E, Lichtman MA, Coler BS, Kipps TJ, Seligsohn U. The Erythrocyte William's Hematology, 6.ª ed. New York: Mc Graw Hill, 2001; 271-294.
2. Bessis M. Red Cell Shapes. An illustrated classification and its rationale Nouv Rev Fr Hematol 1972; 12:721.
3. Singer GL, Nicholson CL. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. Science 1972; 17:729-731. Ann Rev Biochem 1974; 43:805-807.
4. Jacobson K, Sheets ED Simson R. Revisiting the fluid mosaic model of membranes. Science 1995; 268:1441-1442.
5. Berga L, Vives Corrons JL, Feliu E, Woessner S, Rozman C. Hemorreología. Bases teóricas y aplicaciones clínicas. Salvat: Barcelona, 1983.
6. Lux SE, Palek J. Disorders of the red cell membrane. Blood. Principles and Pratice of Hematology. Robert I. Handin, Samuel E. Lux, Thomas P. Stassel JB (eds.). Philadelphia: Lippincott Company, 1995.
7. Tse WT, Lux SE. Red blood cell membrane disorders. Br J Haematol 1999; 104:2-13.
8. Fairbanks G, Steck TL, Wallach DF. Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane. Biochemistry 1971; 10:2606-2617.
9. Gallagher PG, Jarolim P. Disorders membrane red cell. Hematology – Basic Principles and Pratice, 4.ª ed. 2005; 669-691.
10. Bruce LJ, Ghosh S, King MJ et al. Absence of CD47 in protein 4.2-deficient hereditary spherocytosis in man: an interaction between the Rh complex and the band 3 complex. Blood 2000; 100(5):1878-1885.
11. Peters LL, Shivdasani RA, Liu SC. Anion exchanger 1 (Band 3) is required to prevent erythrocyte membrane surface loss, but not to form the membrane skeleton. Cell 1996; 86:917-21 [band 3 knockout mice].
12. Rettig MP, Low PS, Gimm A, Mohandas N, Wang J, Christian JA. Evaluation of biochemical changes during in vivo erythrocyte senescence in the dog. Blood 1999; 93:376-384.
13. Ezbska E, Bader-Meunier E, Schischmanoff PO et al. Abnormal glycosylation of red cell membrane band 3 in the congenital disorder of glycosylation Ig. Pediatric Research 2003; 54:224-229.
14. Toye AM, Bruce LJ, Unwin RJ, Wrong O, Tanner MJA Walton Band 3. A C-terminal deletion associated with distal renal tubular acidosis, is expressed in the red cell membrane but retained internally in kidney cells. Blood 2002; 1:342-347.
15. Blanchard D. Human red cell glycophorins: biochemical and antigenic properties.Transf Med Rev 1990; 4:170-186.
16. King MJ. Structure, polymorphisms and biological role of glycophorins A, B, C, and D. En: Human blood cells: consequences of genetic polymorphisms and variations (Ed. M-J King). Imperial College Press, 2000; 149-192.
17. Avent ND, Reid ME. The Rh blood group system: a review. Blood 2000; 95:375-387.
18. Hoffman, JF. The red cell membrane and the transport of sodium and potassium. Am J Med 1966; 41:666-680.
19. Steinberg MN, Forget BG, Higgs D. Disorders of hemoglobin. Cambridge University Press, 2002.
20. Steinberg MH, Benz EJ, Adewoye HA, Ebert B. Pathobiology of the human erythrocyte and its hemoglobins. Hematology. En: Gallagher PG, Jarolim P. Disorders membrane red cell. Hematology – Basic Principles and Practice, 4.ª ed., 2005; 669-691.
21. Benesh R, Benesh RE. The effect of organic phosphates from the human erythrocyte on the allosteric properties of hemoglobin. Biochem Biophys Res Commun 1967; 26:162-178.
22. Chanutin A, Curnish RR. Effect of organic and inorganic phosphates on the oxygen equilibrium of human erythrocytes. Arch Biochem Biophys 1967; 121:96-102.
23. Perutz MF. Stereochemistry of cooperative effects in haemoglobin. Nature 1970; 288:726-739.
24. Solis C. Anemias sideroblásticas congénitas. En: García-Conde Bru J, San Miguel JF, Sierra Gil J, Vicente García V, Urbano Ispizua A, Vives Corrons JL (eds.). Hematología. Madrid: Aran Ediciones, 2003; 227-236.
25. Aizencang G, Solís C, Bishop DF, Warner C, Desnick RJ. Humanuroporphyrinogen-III synthase: genomic organization, alternative promoters, and erythroid-specific expression. Genomics 2000; 70:223-231.
26. Solís C, Aizencang GI, Astrin KH, Bishop DF, Desnick RJ. Uroporphyrinogen III synthase erythroid promoter mutations in adjacentGATA1 and CP2 elements cause congenital erythropoietic porphyria. J Clin Invest 2001; 107:753-762.
27. Smith DW. The molecular biology of mammalian hemoglobin synthesis Ann Clin Lab Sci, 1980. Vol 10, Issue 2, 116-122.
28. Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR, Wood WG. The Hemoglobinopathies. The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease. En: Scriver CR, Sly WS, Barton Ch et al (eds.). 8.ª ed. New York: McGraw Hill, 2000.
29. Hertzberg MS, Mickleson KN, Trent RJ. Limited genetic diversity in polynesians reflected in the highly polymorphic 3'HVR alpha-globin gene marker. Human Heredity. 1992; (42):157-161.
30. Lewin B. Genes, 8.ª ed. Pearson-Prentice Hall (New York), 2004.
31. Stamatoyannopoulos G. Nienhuis AW. Leder P, Majereus PW. The Molecular Basis of Blood Diseases, 2.ª ed. Philadelphia: Saunders, 1994.
32. Miler JL. Hemoglobin switching and modulation: genes, cells, and signals. Curr Op Hematol 2002; 9:87-92.
33. Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR, Nagel RL. Disorders of Hemoglobin: Genetics, pathophysiology and clinical management, Cambridge University Press, 2001.
34. Yu KT, Pendley C, Herczeg T, Pendleton RG. 2,3-diphosphoglycerate phosphatase/synthase: A potential target for elevating the diphosphoglycerate level in human red cells. J Pharmacol Exp Ther 1990; 252:192-200.
35. Piomelli S. G6PD Deficiency and related disorders of the pentose pathway. En: Hematology of infancy and childhood. Nathan D, Oski F (eds.). WB Saunders, 1987.
36. Miyata M, Nagata K, Yamazoe Y, Kato R. Isolation and characterization of human liver cytochrome b5 reductase cDNA. Pharmacol Res 1989; 21:513-520.
37. Vives Corrons JL. Eritropoyesis normal. En: Eritropoyetina humana recombinante. Valderrábano F (ed.). Madrid: Biblio stm, 1998; 1-33.
38. Jelkman W. Erythropoietin. Structure, control of production and function. Physiol Rev 1992; 72:449-489.

CAPÍTULO 5

La anemia. Aspectos generales del diagnóstico

J. L. Vives Corrons

ÍNDICE

La anemia. Concepto y clasificación
- Clasificación de la anemia según el VCM
- Clasificación de la anemia según la respuesta reticulocitaria

Mecanismos de adaptación a la anemia
- Estímulo de la eritropoyesis
- Distribución del volumen sanguíneo
- Aprovechamiento de la hemoglobina disponible

Manifestaciones clínicas de la anemia
- Cutáneo-mucosas
- Inespecíficas de carácter general
- Cardiocirculatorias
- Neurológicas
- Digestivas
- Renales
- Ginecológicas

Consideraciones generales del paciente con anemia
- Influencia de la edad y el sexo
  - *Período neonatal*
  - *Infancia*
  - *Juventud*
  - *Edad adulta*
- Influencia de las enfermedades sistémicas
  - *Hepatopatías crónicas*
  - *Insuficiencia renal*
  - *Endocrinopatías*
  - *Neoplasias*

Orientación diagnóstica de la anemia
- Volumen corpuscular medio
- Recuento de reticulocitos
- Examen morfológico de la sangre
- Velocidad de sedimentación globular
- Examen morfológico de la médula ósea

Bibliografía

LA ANEMIA. CONCEPTO Y CLASIFICACIÓN

La anemia se define como la disminución de la concentración de hemoglobina (Hb) de la sangre, y constituye una de las causas más frecuentes de consulta clínica por tres motivos fundamentales: 1) su elevada incidencia en niños, mujeres jóvenes e individuos de edad avanzada, especialmente si existe malnutrición; 2) constituye un signo que suele aparecer en el curso de un elevado número de enfermedades, y 3) presenta una frecuencia muy elevada en países del Tercer Mundo, debido a los graves problemas de desnutrición y enfermedades transmisibles. Por ello, los límites de referencia de la concentración de hemoglobina en sangre pueden variar según la población analizada, la edad, el sexo, las condiciones ambientales y los hábitos alimentarios. Al objeto de disponer de un criterio generalizado que permita establecer el diagnóstico de anemia la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido unos límites de referencia para la concentración de hemoglobina en sangre en función de la edad y el sexo (tabla 5.1). Según este criterio, unánimemente aceptado, existe anemia cuando la concentración de hemoglobina en sangre se halla por debajo de los límites establecidos por la OMS, independientemente de que la concentración de eritrocitos sea normal o incluso elevada. Con todo, al considerar la existencia de anemia siempre debe tenerse en cuenta la posible influencia de las variaciones del volumen plasmático, ya que mientras un aumento del plasma diluye la sangre (hemodilución) y disminuye la concentración de hemoglobina, un descenso del volumen plasmático concentra la sangre (hemoconcentración) y aumenta la concentración de hemoglobina (tabla 5.2). La concentración de hemoglobina puede expresarse en g/L (unidad de masa) o en mmol/L (unidad de sustancia). El Comité Internacional para la Estandarización en Hematología (ICSH) recomienda el empleo de la primera, compatible con la normativa propuesta por el Sistema Internacional de Unidades (SI).

En la práctica clínica se utilizan dos criterios para realizar una clasificación general de las anemias: criterios morfológicos, según el tamaño de los eritrocitos (volumen corpuscular

TABLA 5.1

Límites de normalidad ($\bar{x}$ ± 2 DE) de la concentración de hemoglobina, hematocrito y recuento de eritrocitos

	Hemoglobina (g/L)		Hematocrito (L/L)	Eritrocitos ($\times 10^{12}$/L)
	$\bar{X}$ ± 2 DE (g/L)	Límite inferior		
Recién nacidos (a término)	160 ± 30	**140**	0,54 ± 0,10	5,6 ± 1,0
Niños de 3 meses	15 ± 20	**95**	0,38 ± 0,06	4,0 ± 0,8
Niños de 1 año	120 ± 10	**110**	0,40 ± 0,04	4,4 ± 0,8
Niños entre 1 y 12 años	130 ± 10	**120**	0,40 ± 0,04	4,8 ± 0,7
Mujeres (no embarazadas)	140 ± 20	**120**	0,40 ± 0,05	4,8 ± 1,0
Varones	150 ± 20	**130**	0,50 ± 0,07	5,5 ± 1,0

TABLA 5.2

Situaciones que pueden falsear el valor de la concentración de hemoglobina

1. **Aumento del volumen plasmático (hemodilución)**
   - Embarazo
   - Anemias carenciales
   - Insuficiencia renal aguda
   - Insuficiencia cardíaca congestiva
   - Macroglobulinemia de Waldenström
   - Hipoalbuminemia
   - Esplenomegalia congestiva (hiperesplenismo)
   - Ortostatismo
2. **Disminución del volumen plasmático (hemoconcentración)**
   - Deshidratación
   - Síndromes diarreicos
   - Síndromes inflamatorios crónicos del intestino
   - Paracentesis abdominal
   - Diálisis peritoneal
   - Acidosis diabética
   - Diabetes insípida con disminución de la ingesta de líquidos
   - Estrés (poliglobulia espúrea)
3. **Disminución del volumen plasmático y volemia eritrocitaria**
   - Hemorragia aguda
   - Neoplasias
   - Mixedema
   - Enfermedad de Addison
   - Panhipopituitarismo

medio o VCM) y criterios fisiopatológicos, según la capacidad eritropoyética de la médula ósea (concentración de reticulocitos).

Clasificación de la anemia según el VCM

La apreciación del tamaño y el contenido hemoglobínico de los eritrocitos a partir de la extensión de sangre teñida ha sido, durante muchos años, uno de los exámenes de laboratorio más empleados en el diagnóstico de las anemias. El carácter subjetivo inherente a esta exploración fue en parte corregido mediante el empleo de los llamados índices eritrocitarios, conocidos clásicamente como índices de Wintrobe[1]. Estos índices relacionan tres magnitudes sanguíneas correspondientes a los eritrocitos: concentración de eritrocitos y hemoglobina en sangre y fracción de volumen sanguíneo eritrocitario o hematocrito (tabla 5.3). Durante muchos años estos índices se obtenían mediante cálculo matemático a partir de magnitudes obtenidas con procedimientos manuales, lo cual, además de engorroso, era muy impreciso. Por ello, la utilidad práctica de los índices eritrocitarios no fue reconocida hasta la implantación de los analizadores automáticos en el laboratorio de hematología. Tales sistemas, basados muchos de ellos en el principio Coulter (Wallace Coulter, 1956), emplean el método de la electroconductividad o conductancia para realizar un recuento rápido y fiable de las células sanguíneas en suspensión[2]. Gracias a ello, pueden realizar también una determinación rápida y fiable de los índices eritrocitarios que son suministrados por los analizadores hematológicos (tabla 5.4).

El índice eritrocitario de mayor valor clínico es el *volumen corpuscular medio* (VCM), por cuanto constituye un criterio morfológico para clasificar las anemias en normocíticas (VCM = 82-98 fL), macrocíticas (VCM > 98 fL) y microcíticas

TABLA 5.3

Índices eritrocitarios de Wintrobe

VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO (VCM)

$$\frac{\text{Hematocrito L/L)}}{\text{Eritrocitos } (\times 10^{12}\text{/L})} \text{ (fL)}$$

HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MEDIA (HCM)

$$\frac{\text{Hemoglobina (g/L)}}{\text{Eritrocitos } (\times 10^{12}\text{/L})} \text{ (pg)}$$

CONCENTRACIÓN CORPUSCULAR MEDIA DE HEMOGLOBINA (CCMH)

$$\frac{\text{Hemoglobina (g/L)}}{\text{Hematocrito (L/L)}} \text{ (g/L)}$$

TABLA 5.4

Valores normales de los índices eritrocitarios automatizados

	VCM (fL)	HCM (pg)	CCMH (g/L)
Recién nacidos (a término)			
– de 1 a 7 días	107	34 ± 5	330 ± 25
– hasta los 3 meses	92 ± 6	30 ± 4	330 ± 30
Niños (< 1 año)	78 ± 8	26 ± 4	330 ± 25
Niños (1 a 12 años)	85 ± 8	27 ± 3	330 ± 25
Mujeres (no embarazadas)	89 ± 9	30 ± 3	340 ± 25
Varones	90 ± 9	30 ± 3	340 ± 25

(VCM < 82 fL). El VCM se correlaciona con la *hemoglobina corpuscular media* (HCM), magnitud que informa sobre el valor medio del contenido hemoglobínico de los eritrocitos circulantes. En consecuencia, la HCM disminuye al hacerlo el VCM (anemias microcíticas e hipocromas) y aumenta cuando aumenta el VCM (anemias macrocíticas e hipercromas). La *concentración corpuscular media de hemoglobina* (CCMH) relaciona el VCM y la HCM entre sí, por lo que sus variaciones suelen ser muy pequeñas, incluso en presencia de hipocromía. Por ello, a excepción de ciertas enfermedades con aumentos característicos de la CCMH (p. ej., esferocitosis hereditaria y xerocitosis congénita), la utilidad práctica de la CCMH es escasa. En determinadas situaciones patológicas, el valor del VCM puede estar modificado por factores no debidos al tamaño eritrocitario, como alteraciones de la forma o de la deformabilidad celular. Estos problemas obedecen al método electrónico empleado para medir el VCM, y pueden evitarse en parte si se emplea una tecnología basada en la dispersión de luz láser en campo oscuro y una medida independiente del VCM y de la HCM[3]. Debe tenerse siempre en cuenta que el VCM es un valor medio y que, por tanto, no informa sobre la homogeneidad de la población eritrocitaria analizada, de manera que tanto las dismorfias eritrocitarias como la anisocitosis pueden pasar fácilmente desapercibidas. Para obviar este inconveniente, algunos analizadores hematológicos suministran, junto con el valor del VCM, la curva de distribución eritrocitaria, con la medida de su amplitud (grado de dispersión) y el correspondiente histograma de frecuencias (fig. 5.1). El valor de la amplitud de la curva de distribución eritrocitaria (ADE) es un índice aproximado de la anisocitosis, pero la falta de uniformidad en la forma de realizar su cálculo por parte de las diferentes firmas que comercializan los analizadores hematológicos limita en gran parte su aplicabilidad clínica. Con todo, algunos autores[4] consideran el valor de ADE como un complemento útil al VCM en la clasificación morfológica de las anemias (tabla 5.5).

Clasificación de la anemia según la respuesta reticulocitaria

La concentración de reticulocitos informa sobre la capacidad de la médula ósea para adaptarse al descenso de la concentración de hemoglobina en sangre. Este criterio es especial-

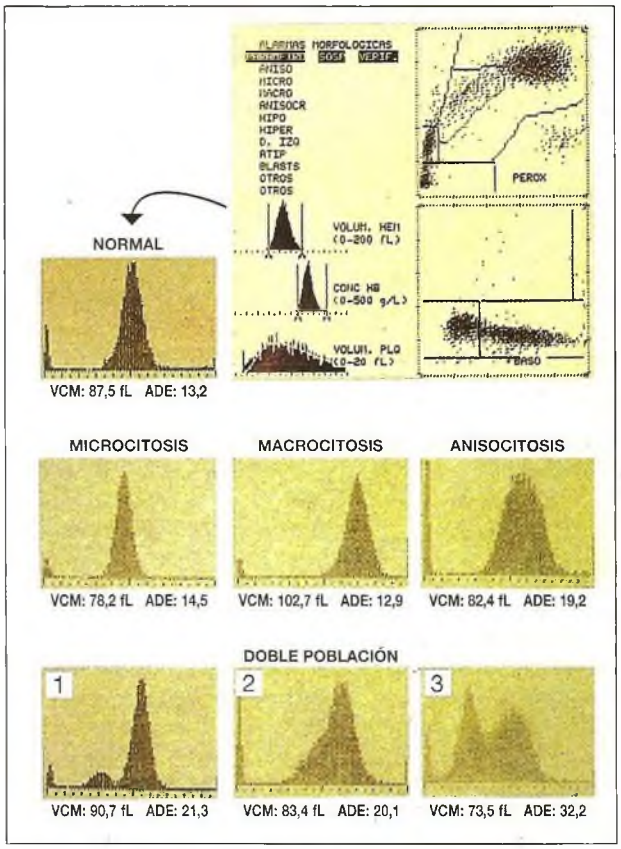


Figura 5.1. Curvas de amplitud de distribución eritrocitaria (ADE) y posibles variaciones en diferentes situaciones patológicas. Apréciese cómo valores normales de VCM pueden ir acompañados de una ADE muy alterada.

TABLA 5.5

Clasificación de las anemias según el VCM y la ADE

	VCM disminuido	VCM normal	VCM aumentado
ADE normal	β-talasemia rasgo α-talasemia rasgo	Normocítica simple	Aplasia medular
ADE aumentada	Ferropenia	Anemia inflamatoria Hipotiroidismo	Anemia megaloblástica

ADE: amplitud de distribución de la curva eritrocitaria; VCM: volumen corpuscular medio.

mente útil cuando el VCM es normal. Como es sabido, toda disminución de la concentración de hemoglobina en sangre tiene, como contrapartida, un aumento compensador de la eritropoyesis debido al aumento de la concentración de eritropoyetina (Epo). Por ello, cuando la médula presenta una capacidad regenerativa normal, siempre debe existir una relación inversa entre la disminución de hemoglobina y el aumento del número de reticulocitos (anemia regenerativa). Por el contrario, cuando la anemia carece de dicha capacidad, no va acompañada de un aumento proporcional del número de reticulocitos, y se pierde la relación entre ambos parámetros (anemia arregenerativa).

Anemia regenerativa. Se caracteriza por un aumento de regeneración efectiva de la eritropoyesis como respuesta a la disminución de la concentración de hemoglobina y, en general, obedece a una pérdida de eritrocitos en la periferia, por hemorragia o por hemólisis (tabla 5.6). En ambos casos, es característico el aumento de la concentración de reticulocitos o reticulocitosis. La hemorragia puede ser intensa, con descenso brusco del valor hematocrito y objetivable a la exploración clínica, o de pequeña intensidad y carácter crónico, con descenso progresivo del hematocrito y del VCM (anemia ferropénica). Estas últimas, debido a su carácter solapado, pueden pasar desapercibidas desde el punto de vista clínico (enfermedad de Rendu-Osler y hemosiderosis pulmonar idiopática). La hemólisis obedece a un acortamiento de la supervivencia de los eritrocitos en la circulación, y su mecanismo puede ser diverso: aumento de la destrucción fisiológica (hemólisis extravascular) o rotura de los eritrocitos en el interior de los vasos (hemólisis intravascular). Las anemias hemolíticas pueden aparecer de forma esporádica y con carácter agudo (descenso brusco del hematocrito, reticulocitosis, ictericia y orinas oscuras) o de forma crónica e intensidad variable (anemia moderada, reticulocitosis, ictericia y esplenomegalia)[5].

Anemia arregenerativa. Obedece a un defecto en la eritropoyesis, y sus causas pueden ser muy diversas y situadas en diferentes etapas de la línea madurativa eritropoyética (tabla 5.7).

TABLA 5.6

Causas de anemia regenerativa

HEMORRAGIA
- Aguda
- Crónica

HEMÓLISIS
- CAUSA CONGÉNITA
  - Membranopatías (esferocitosis hereditaria)
  - Hemoglobinopatías (estructurales y talasemias)
  - Enzimopatías (déficit de G6PD y PK)
- CAUSA ADQUIRIDA
  - Anemias hemolíticas inmunes (autoinmunes y otras)
  - Anemias hemolíticas mecánicas (valvulopatías y MAT)
  - Anemias tóxicas y metabólicas
  - Paludismo y otras parasitosis
  - Hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN)
  - Hiperesplenismo

Una *lesión del compartimento de células progenitoras pluripotentes* (GEMM) suele afectar a toda la hematopoyesis, y la anemia suele ir acompañada de leucopenia y/o plaquetopenia (aplasia medular, síndromes mielodisplásicos y/o mielofibrosis). Dicho compartimento puede resultar afectado por circunstancias diversas, como la invasión de la médula por células ajenas a la hematopoyesis (metástasis), presencia de células tesaurismóticas (enfermedad de Gaucher), de granulomas (tuberculosis, histoplasmosis, infecciones víricas o

TABLA 5.7

Causas de anemia arregenerativa

LESIÓN DE PROGENITORES ERITROPOYÉTICOS (GEMM, BFU-E, CFU-E)
- Lesión de células pluripotentes (GEMM)
  - Aplasia medular (AM)
  - Síndromes mielodisplásicos (SMD)
  - Mielofibrosis idiopática (MFI)
  - Infiltración neoplásica de la médula ósea (metástasis)
    - Carcinoma pulmonar de células pequeñas
    - Carcinoma mamario
    - Carcinoma de próstata
    - Linfoma y mieloma
  - Síndromes inflamatorios crónicos
  - Tesaurismosis (enfermedad de Gaucher)
  - Gérmenes
    - Histoplasmosis
    - *Mycobacterium avium intracellulare*
    - Virus
    - VIH (sida)
  - Medicamentos
  - Hipotiroidismo
  - Uremia
- Lesión de células comprometidas (BFU-E y CFU-E)
  - Eritroblastopenia
    - Congénita (Diamond-Blackfan)
    - Adquirida
      - Idiopática
      - Timoma
      - Ingesta de medicamentos
      - Nefropatía
      - Autoanticuerpos contra los eritroblastos
      - Infección por parvovirus y humano B19
    - Diseritropoyesis congénita
      - Anemia diseritropoyética tipo I
      - Anemia diseritropoyética tipo II (HEMPAS)*
      - Anemia diseritropoyética tipo III
      - Otras anemias diseritropoyéticas

LESIÓN DE PRECURSORES ERITROPOYÉTICOS
- Disminución de la síntesis de hemoglobina
  - Ferropenia
  - Defectos en la utilización del hierro
  - Talasemias
- Disminución de la síntesis de DNA
  - Déficit de cobalamina
  - Déficit de folato

*HEMPAS: Hereditary Erythroblastic Multinuclearity with Positive Acidified Serum test.

parasitosis) capaces de modificar el microambiente necesario para la regeneración y mantenimiento de los progenitores hematopoyéticos[5,6].

Cuando se afectan de manera específica las células progenitoras comprometidas hacia la línea eritroide (BFU-E y CFU-E), suele disminuir la capacidad eritropoyética de la médula ósea, con disminución o desaparición de toda la línea madurativa (eritroblastopenia) o con alteración de la diferenciación y maduración (diseritropoyesis). Tanto la eritroblastopenia como la diseritropoyesis pueden tener un origen hereditario o adquirido. Entre las formas hereditarias de eritroblastopenia destaca la llamada enfermedad de Diamond-Blackfan (EBD) y las llamadas anemias diseritropoyéticas congénitas (ADC). Las ADC constituyen un capítulo importante de la hematología, debido a su interes clínico, fisiopatológico y morfológico[7]. Son causa de anemia poco frecuente o rara, y engloban diversos trastornos de la eritropoyesis que tienen en común importantes alteraciones morfológicas de los precursores eritroblásticos. Entre ellas destacan las que afectan al núcleo (multinuclearidad, fisuras o *clefts*, mamelones o *blefts* y penetraciones de material citoplásmico) y al citoplasma (alteraciones de la hemoglobinización con distribución irregular de la hemoglobina, presencia de material cromatínico, alteraciones morfológicas de las mitocondrias y retículo endoplasmático, presencia de doble membrana y otras). Todos estos trastornos obedecen a mutaciones de genes diversos, cuyo estudio e identificación constituye actualmente un aspecto importante de la investigación hematológica. La eritroblastopenia adquirida suele ser consecuencia de un timoma, y la diseritropoyesis adquirida forma parte de los llamados síndromes mielodisplásicos (SMD) en los que la lesión se sitúa en progenitores con potencialidad mieloide trilineal (eritroide, granulomonocítica y megacariocítica)[5,8,9].

MECANISMOS DE ADAPTACIÓN A LA ANEMIA

De acuerdo con la forma de aparición o instauración de la anemia, los sistemas de adaptación pueden ser de dos tipos: inmediatos o tardíos. Entre los inmediatos destacan el estímulo de la eritropoyesis (síntesis de eritropoyetina) y la redistribución del volumen sanguíneo (vasoconstricción generalizada), y entre los tardíos, el mejor aprovechamiento de la poca hemoglobina disponible.

Estímulo de la eritropoyesis

Es una consecuencia directa del aumento de la concentración de eritropoyetina (Epo) en plasma, y su objetivo es aumentar la concentración de hemoglobina. Siempre que existe anemia, aumenta la síntesis de Epo, se estimula la eritropoyesis, aumenta el número de eritroblastos y se acortan sus fases madurativas. Con ello, se favorece la hemoglobinogénesis y la salida precoz de eritrocitos a la circulación. Así, cuando la eritropoyesis aumenta 7 u 8 veces, la duración de la maduración eritrocitaria se reduce en 3 o 4 días, con lo que aumenta no sólo el número de reticulocitos sino también el tamaño de los eritrocitos maduros.

En la práctica clínica, la existencia del estímulo eritropoyético puede ponerse fácilmente de manifiesto mediante un recuento de reticulocitos. Por ello, ante toda anemia es fundamental investigar siempre la existencia de respuesta reticulocitaria (aumento de la concentración de reticulocitos), ya que ello indica una capacidad normal de la médula ósea para adaptarse al descenso de la concentración de hemoglobina. El aumento de la síntesis de Epo obedece a un mecanismo complejo en el que intervienen varios factores, de los que la hipoxia es el desencadenante[10].

Distribución del volumen sanguíneo

Ante una anemia, el organismo responde de forma inmediata con una redistribución de la sangre, cuyo objetivo inmediato es garantizar la oxigenación de los órganos vitales. En este proceso, se producen dos fenómenos simultáneos: la vasoconstricción generalizada y el aumento del débito cardíaco. La vasoconstricción se realiza, esencialmente, en las áreas menos necesitadas, como la piel (palidez) y el riñón, al objeto de derivar la sangre hacia regiones más críticas, como el sistema nervioso. El mayor débito cardíaco es una respuesta a la hipoxia de los tejidos cuyo desarrollo viene facilitado por la disminución de la masa eritrocitaria y que, debido a ello, no va acompañado de un aumento de la presión arterial. Por ello, este fenómeno compensatorio no se desarrolla hasta que la concentración de hemoglobina en sangre desciende por debajo de 70 g/L. Clínicamente, el mayor débito cardíaco se manifiesta por taquicardia y aparición de soplos sistólicos funcionales, cuya intensidad está en función de la rapidez con que se instaura la anemia. Si la anemia es muy intensa y de instauración brusca (anemia aguda), la disminución de la presión venosa puede facilitar la aparición de un shock hipovolémico. En este caso, debe tenerse siempre presente que inmediatamente después de la hemorragia tanto el hematocrito como la concentración de hemoglobina apenas varían con respecto a la normalidad, ya que se ha producido una disminución proporcional de la masa eritrocitaria y del volumen plasmático. Por el contrario, cuando es de instauración lenta (anemia crónica), existe un aumento progresivo y característico del volumen plasmático para mantener la volemia y evitar la aparición del shock. Debido a ello, existe una primera fase de adaptación, con descenso no proporcional de la concentración de hemoglobina por hemodilución, es decir, una falsa anemia. Este fenómeno debe tenerse siempre en cuenta antes de transfundir a pacientes de edad avanzada y anemia crónica, ya que, en este caso, la administración de concentrados de eritrocitos podría precipitar, por aumento brusco de la volemia, la descompensación de algún trastorno cardiocirculatorio latente o subclínico. Finalmente, cuando la anemia no es muy intensa, el desarrollo progresivo de los mecanismos de adaptación puede explicar el que ésta pueda pasar desapercibida desde el punto de vista clínico.

Aprovechamiento de la hemoglobina disponible

Se consigue aumentando la concentración de 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) en los eritrocitos, con lo que al disminuir la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno se favorece la liberación de oxígeno a los tejidos. Con este efecto, aumenta la capacidad oxigenadora de la sangre y, con ello, el rendimiento de la escasa hemoglobina disponible.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA ANEMIA

El síndrome anémico consta de un conjunto de manifestaciones clínicas que pueden resumirse en los siguientes grupos: (tabla 5.8): *a*) manifestaciones cutáneo-mucosas; *b*) manifestaciones inespecíficas de carácter general; *c*) manifestaciones cardiocirculatorias; *d*) manifestaciones neurológicas; *e*) manifestaciones digestivas; *f*) manifestaciones renales, y *g*) manifestaciones ginecológicas.

TABLA 5.8

Manifestaciones clínicas del síndrome anémico

Palidez

Sintomatología general
- Astenia
- Disnea
- Fatiga muscular

Manifestaciones cardiocirculatorias
- Taquicardia
- Palpitaciones
- Soplo sistólico funcional

Trastornos neurológicos
- Alteraciones de la visión
- Cefaleas
- Alteraciones de la conducta
- Insomnio

Alteraciones del ritmo menstrual
- Amenorrea

Alteraciones renales
- Edemas

Trastornos digestivos
- Anorexia
- Constipación

Cutáneo-mucosas

La palidez es uno de los signos más característicos de anemia y lo primero que llama la atención al realizar la exploración clínica del paciente, y es una consecuencia directa del descenso de la concentración de hemoglobina y de la vasoconstricción cutánea que puede acompañarla. Los lugares idóneos para explorar la palidez son las mucosas de la conjuntiva ocular, la del velo del paladar, y la región subungueal (fig. 5.2). Obviamente, ciertas características fenotípicas, como la constitución del paciente o el color de la piel, pueden hacer difícil la apreciación de este dato de exploración física. La intensidad de la palidez guarda una relación directa con la de la anemia, por lo que puede ser muy variable. Así, cuando es intensa (< 90 g/L) la piel adquiere una tonalidad cérea característica, pero cuando es leve (90-110 g/L) puede pasar desapercibida a la exploración física.

Inespecíficas de carácter general

La manifestación clínica más característica de la anemia, aunque de carácter muy inespecífico, es la sensación de cansancio o astenia, acompañada de fatiga ante pequeños esfuerzos. Este síntoma se halla tan ligado a la anemia que, para el profano, tiene prácticamente el mismo significado. En casos de anemia intensa, la astenia suele agudizarse, y va acompañada de ortopnea, disnea de esfuerzo e impotencia muscular. Esta sintomatología, que suele aparecer precozmente en el desarrollo de toda anemia, siempre debe valorarse en el contexto de la historia clínica y la exploración física del paciente, ya que puede enmascarar otros procesos subyacentes no acompañados necesariamente de anemia pero sí de alteraciones diversas del estado general.

Cardiocirculatorias

Aunque constantes en caso de anemia aguda, suelen acompañar también a toda anemia de instauración lenta y carácter crónico, aunque sea de escasa intensidad. En general, obedecen a la puesta en marcha de mecanismos para compensar el descenso de la volemia, y se caracterizan por disnea, taqui-

Figura 5.2. Paciente con anemia. La palidez facial (*izquierda*) va acompañada de palidez en la región subungueal (*derecha*). Para comparar, se ha incluido una imagen del lecho subungueal normal.

cardia, palpitaciones y aparición de un soplo sistólico funcional en punta y base. Si la anemia es muy intensa (< 50 g/L), se sobreañade taquipnea y/o pérdida del conocimiento, con modificaciones del electrocardiograma en la onda T o en el segmento ST. Finalmente, cuando la hemoglobina desciende por debajo de 30 g/L (anemia grave) pueden aparecer signos de hipoxia cerebral, cefaleas, vértigos e incluso un estado de coma que puede terminar con la vida del paciente por anoxia cerebral. En los enfermos de edad avanzada o con trastornos cardiocirculatorios previos, la aparición de una anemia puede facilitar la descompensación del proceso cardiovascular, con signos de insuficiencia cardíaca congestiva (ingurgitación yugular, hepatomegalia, ascitis y edemas en las extremidades y/o edema pulmonar), insuficiencia coronaria (angor o infarto de miocardio) o facilitar la aparición de accidentes vasculares cerebrales agudos y claudicación intermitente.

Neurológicas

Aunque pueden aparecer a cualquier edad, son mucho menos frecuentes que las de tipo cardiovascular y, casi siempre, limitadas a pacientes con anemia muy intensa, de edad avanzada o con esclerosis cerebral incipiente. Consisten, principalmente, en pérdida de memoria, cambios de humor, cefaleas, vértigos, trastornos visuales, insomnio, incapacidad para concentrarse y, ocasionalmente, desorientación.

Digestivas

Son relativamente frecuentes en los pacientes con anemia, especialmente en la de índole carencial. La mayoría de las veces presentan un carácter solapado, y casi nunca llegan a explicar, por sí solas, una eventual pérdida de peso. En general, consisten en la pérdida del apetito (anorexia), náuseas y, ocasionalmente, estreñimiento. Con frecuencia, las manifestaciones digestivas son más propias de la enfermedad de base, causa de la anemia, que de ésta propiamente dicha.

Renales

Obedecen a la vasoconstricción secundaria a la anemia que disminuye el flujo y la filtración glomerular, estimulando la secreción de aldosterona. Ello favorece la retención acuosa y la aparición de edemas en las extremidades. Si la anemia es muy intensa pueden observarse también aumentos transitorios de la concentración de creatinina en plasma.

Ginecológicas

Es un hecho bien conocido que la intensidad de la pérdida de sangre en la menstruación constituye la causa más frecuente de anemia moderada (Hb: 90-110 g/L) en las mujeres jóvenes o premenopáusicas, y presenta una buena respuesta a la administración oral de hierro. Sin embargo, en algunas mujeres, especialmente con anemia más intensa, es frecuente observar una disminución del volumen y ritmo menstrual, con tendencia a la amenorrea. Esta situación constituye, de hecho, un mecanismo de protección del organismo frente a la pérdida de hemoglobina, mediante un fenómeno de regulación de la actividad menstrual con disminución o incluso desaparición de la menstruación. Este fenómeno puede ser tan evidente que, a veces, constituye el motivo principal de la consulta.

CONSIDERACIONES GENERALES DEL PACIENTE CON ANEMIA

Aunque, afortunadamente, la causa más habitual de la anemia es la falta de hierro (ferropenia), otras veces constituye una tarea ardua y difícil llegar a conocer la causa de una anemia. Ello obedece a que la anemia, además de ser la manifestación característica de un trastorno eritrocitario o de la eritropoyesis, constituye un signo, a veces poco relevante, de un elevado número de situaciones patológicas cuyo conocimiento es imprescindible para evitar errores diagnósticos. Igualmente, el diagnóstico de ciertas anemias, poco frecuentes o «raras», casi siempre hereditarias, constituye, precisamente por el escaso conocimiento que se tiene de ellas, un problema clínico de indudable trascendencia económica y social (fig. 5.3).

Ante un paciente con anemia se han de tener siempre en cuenta tres aspectos básicos: la edad, el sexo y las enfermedades sistémicas causantes de anemia.

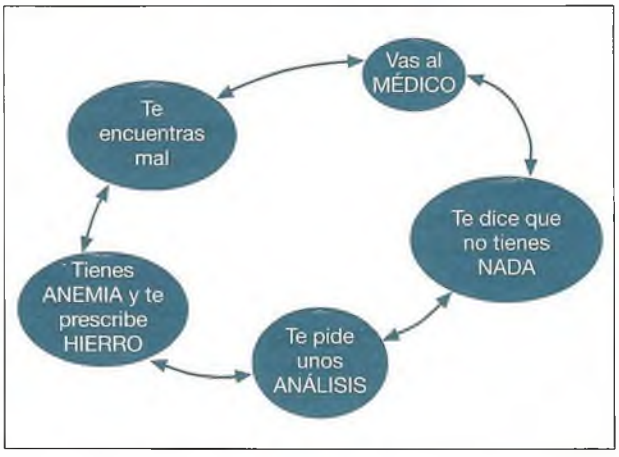


Figura 5.3. Círculo vicioso de un paciente afectado de una anemia poco común o «rara».

Influencia de la edad y el sexo

Existen importantes diferencias en la concentración de hemoglobina durante las diferentes etapas cronológicas del crecimiento. La incidencia de las diferentes formas de anemia varía también según estas etapas cronológicas del crecimiento: período neonatal; infancia; juventud y edad adulta.

Período neonatal

Los mayores problemas diagnósticos de anemia en los niños surgen durante el *período neonatal* (recién nacidos) o *perinatal* (lactantes). En ambos casos, hay que tener en cuenta la posible existencia de factores que pueden dificultar la interpretación de los resultados. Por ello, cuando la anemia es muy intensa y se requiere transfusión, junto con el hemograma y extensión de sangre deben practicarse siempre sistemáticamente un recuento de reticulocitos y la prueba de la antiglobulina directa (PAD) o prueba de Coombs. El recuento de reticulocitos es de extraordinaria importancia, ya que si éstos se hallan disminuidos, lo más probable es que se trate de una anemia arregenerativa por trastorno primario de la eritropoyesis, mientras que si se hallan aumentados, lo más probable es que se trate de una hemorragia o hemólisis. La prueba de la antiglobulina directa (Coombs) contribuye a descartar la enfermedad hemolítica del recién

nacido por isoinmunización Rh o de grupos menores. El valor del VCM y el examen morfológico de la extensión de sangre del recién nacido pueden aportar información importante para la orientación diagnóstica siempre que no se vean limitados por el efecto transfusional. Así, en caso de negatividad de la PAD, la correcta valoración del VCM puede tener importancia diagnóstica. Una intensa microcitosis acompañada de hipocromía es sugestiva de reacción hemolítica transfusional, mientras que la existencia de normocitosis es más propia de una hemorragia, un proceso infeccioso o un trastorno metabólico del eritrocito. Determinados trastornos hereditarios del eritrocito, como la esferocitosis o eliptocitosis congénitas, cursan también con alteraciones morfológicas peculiares de gran utilidad diagnóstica. En los casos en los que la observación morfológica de los eritrocitos pueda verse enmascarada por los efectos de una transfusión, queda el recurso de realizar un estudio familiar, ya que el hallazgo de alteraciones significativas en uno o ambos progenitores puede ser decisivo para establecer el diagnóstico[11].

En caso de *prematuridad*, la anemia constituye una manifestación clínica prácticamente constante. En general, los valores de concentración de hemoglobina son siempre inferiores a 100 g/L, y pueden llegar a ser de 60-70 g/L en los casos más graves. La anemia del prematuro se observa siempre de forma aislada (sin leucopenia ni plaquetopenia), y es normocítica (VCM normal) y normocroma (HCM normal) para la edad del paciente. Aunque de mecanismo multifactorial, su característica más destacada es la disminución del número de reticulocitos y de la concentración de eritropoyetina (Epo) circulante. En su mecanismo fisiopatológico debe considerarse como un factor decisivo la inmadurez del sistema hematopoyético con producción insuficiente de eritrocitos (*eritropoyesis insuficiente*), aunque suelen sumarse también una disminución de la supervivencia de los eritrocitos en la circulación (*hemólisis*) y pérdidas de sangre (*hemorragia*). La eritropoyesis insuficiente se relaciona con los cambios en el lugar de la producción de eritrocitos y de Epo que tienen lugar en el feto durante la gestación. Así, durante las primeras semanas de la embriogénesis, la Epo es sintetizada por las células del saco vitelino, pero al final del primer trimestre de la gestación, toda la Epo es producida por los macrófagos hepáticos. El paso hacia su última localización en las células peritubulares del riñón es gradual y, al final de la gestación, el hígado constituye aún la fuente más importante de Epo. En caso de prematuridad, prácticamente toda la Epo circulante proviene aún del hígado y no del riñón, y dado que la síntesis de Epo hepática es mucho menos sensible que la renal al efecto de la hipoxia, la capacidad de respuesta eritropoyética de los niños prematuros frente a la anemia es muy inferior a la de los nacidos a término. La *disminución de la viabilidad eritrocitaria* o hemólisis constituye un mecanismo menos frecuente que el anterior[12,13]. Las causas de este fenómeno son diversas, y entre ellas destacan el descenso de la concentración de ATP intraeritrocitario debido a una baja actividad de las enzimas del metabolismo, la disminución de la carnitina y un aumento de la susceptibilidad a la acción de sustancias oxidantes. Todo ello conlleva una lesión estructural de la membrana eritrocitaria, con posterior fragmentación eritrocitaria y hemólisis. Finalmente, *la pérdida de sangre* o hemorragia puede obedecer, en parte, a la transfusión fetoplacentaria después del parto o, con mayor frecuencia, a las frecuentes extracciones sanguíneas necesarias para la realización de los diversos análisis de laboratorio. Debe tenerse en cuenta que, en muchos casos, los neonatos con grado extremo de prematuridad poseen en su sistema circulatorio un volumen de sangre que apenas supera los 50 mL. Por ello, la posibilidad de extraer un volumen significativo en un período relativamente corto de tiempo es muy fácil.

Infancia

Durante la *edad infantil* existe una anemia fisiológica microcítica y normocroma (disminución del VCM con CCMH normal) que no debe confundirse con la microcitosis hipocroma de la ferropenia, que es una situación también frecuente en esta etapa de la vida. Esto significa que los eritrocitos del niño tienen un VCM inferior al de la edad adulta, pero que su contenido en hemoglobina es normal. Fuera del origen fisiológico, la anemia durante la infancia puede obedecer a diferentes causas patológicas. Entre ellas, predomina el mecanismo carencial, y más rara vez los trastornos primarios de la eritropoyesis. Durante la adolescencia (12-15 años) vuelve a predominar el mecanismo carencial como causa de anemia y, muy especialmente, el déficit de hierro.

La anemia de los niños se diferencia de la del adulto en tres aspectos fundamentales:

1. Existe un claro predominio del mecanismo carencial por déficit de hierro o folato.
2. Existen formas exclusivas de este período de la vida como, por ejemplo, la *anemia de Fanconi* y la *enfermedad hemolítica del recién nacido*.
3. Prácticamente, no se observan anemias debidas a enfermedades multisistémicas o a ingesta de medicamentos. Cabe destacar, no obstante, que en determinadas áreas geográficas como, por ejemplo, el Mediterráneo, Africa y en el Sudeste Asiático, existe una mayor incidencia de *anemias hemolíticas* por defectos congénitos del eritrocito (anemias hemolíticas congénitas o hereditarias).

Por ello, ante un niño con anemia sólo debe pensarse en un trastorno primario de la eritropoyesis cuando se han descartado las causas carenciales o de hemólisis.

Desde el punto de vista clínico, en los niños la anemia suele presentar mayor expresividad que en el adulto, siendo prácticamente constantes las alteraciones de la conducta (irritabilidad o falta de concentración), astenia (generalmente acompañada de anorexia), disnea y una mayor predisposición a infecciones intercurrentes, debido a la disminución de las defensas. Al igual que en el adulto, el estudio de la anemia en el niño requiere una anamnesis y exploración física completas al objeto de determinar las exploraciones complementarias necesarias para confirmar el diagnóstico. Debe señalarse que aquí adquieren singular importancia los antecedentes personales, étnicos, geográficos, status socioeconómico y existencia de consanguinidad o antecedentes familiares de anemia, ictericia, litiasis biliar o esplenomegalia. Entre los antecedentes personales, destacan la existencia de trastornos durante la gestación, prematuridad, palidez y/o ictericia neonatales. Durante el posparto, debe indagarse la existencia de posibles hemorragias, exposición a tóxicos o coexistencia de patología cardíaca, endocrina, infecciosa, gastrointestinal o renal. La dieta debe ser considerada con gran cuidado, ya que el niño es especialmente sensible a la carencia de factores madurativos, sobre todo de hierro y folato. La exploración física debe ser minuciosa al objeto de descartar la posible presencia de ade-

nopatías y hepatoesplenomegalia, o trastornos de la función cardíaca o respiratoria. La exploración física debe completarse con un estudio neurológico lo más completo posible, ya que la anemia infantil, especialmente la debida a carencia de hierro, suele ir acompañada de cierto grado de retraso del desarrollo psicomotor. Finalmente, con todos los datos clínicos obtenidos, debe poder establecerse una pauta de exploraciones complementarias, especialmente de laboratorio, que permitan establecer el origen de la anemia.

Las exploraciones complementarias nunca deben iniciarse sin una adecuada orientación clínica, ya que la aplicación sistemática de protocolos de estudio inicial exhaustivos, además de inútil, suele ser sumamente cara. Muchas veces, una exploración tan simple como la observación de la morfología eritrocitaria suele ser suficiente para realizar el diagnóstico o sugerir nuevos estudios orientativos. Al igual que en el adulto, la información suministrada por el VCM y la HCM permite diferenciar entre diferentes formas de anemia, sin olvidar que en el niño, la concentración de hemoglobina tiene un valor inferior al del estado adulto (límite inferior de Hb: 110 g/L).

Juventud

La forma de anemia más frecuente es la que se observa en mujeres como consecuencia de la menstruación. Se trata de un tipo bien conocido de anemia ferropénica que siempre responde a la administración de dosis adecuadas de hierro por vía oral. Muchas mujeres jóvenes presentan una tendencia a desarrollar anemia ferropénica muchas veces no explicable por un exceso de pérdida sanguínea durante la menstruación. En estos casos, la ingesta periódica o durante largos períodos de tiempo de pequeñas dosis de hierro por vía oral constituye también la única opción terapéutica. Observar telangiectasias en la mucosa bucal y otras áreas puede orientar hacia una enfermedad de Rendu-Osler, que constituye otra posible causa de anemia ferropénica en individuos jóvenes por hemorragia crónica.

Descartada la anemia ferropénica, otras posibles causas de anemia durante la juventud pueden ser diversas. Entre ellas destaca la anemia hemolítica. Un síndrome hemolítico de larga evolución y con antecedente de ictericia neonatal y/o de «frecuentes hepatitis» es altamente sugestivo de un origen congénito. En este caso, el examen físico puede suministrar una valiosa información sobre la posible causa de la anemia. Así, el hallazgo de subictericia conjuntival, moderada esplenomegalia y litiasis biliar permite orientar el proceso hacia un origen hemolítico. Por el contrario, la apreciación de una lengua roja y depapilada, queilosis o coiloniquia orientan hacia determinadas formas de anemia carencial. Si estos signos coexisten con ciertas manifestaciones neurológicas, como pérdida de sensibilidad vibratoria y postural en las extremidades, el diagnóstico es de degeneración combinada subaguda (DCS) por déficit de vitamina B_{12} o cobalamina (anemia perniciosa). Finalmente, la presencia de úlceras maleolares es orientativa de un proceso hemolítico de larga evolución.

La anemia constituye una de las complicaciones más frecuentes durante la gestación, por lo que su prevención o tratamiento revisten gran importancia clínica, dado que la anemia del embarazo suele asociarse con una mayor incidencia de prematuridad, bajo peso al nacer o mortalidad perinatal.

Las causas de aparición de anemia durante la gestación son diversas, y deben diferenciarse claramente de la «falsa anemia» por hemodilución fisiológica. Durante el embarazo, se produce un aumento del volumen plasmático en un 40-60%, que, a veces, supera con mucho el de la masa eritrocitaria (20 al 50%). Debido a ello, se produce un descenso del valor hematocrito (del 30-32%) y de la concentración de hemoglobina (10%). Se estima que un valor de la concentración de hemoglobina inferior a 104 g/L ya es indicativo de una anemia real. Debe señalarse también que, en caso «falsa anemia» por hemodilución fisiológica, los cambios en el valor de la hemoglobina y el hematocrito no van acompañadas de variaciones del VCM. En caso de anemia real, debido a su frecuente origen carencial, pueden observarse aumentos o disminuciones del VCM según el factor de maduración deficitario (v. más adelante). La llamada «hidremia» del embarazo empieza a desarrollarse a partir de la sexta semana de la gestación, y alcanza su valor máximo a las 24 semanas de la misma o algo más tarde. A partir del tercer trimestre, el aumento paralelo de la masa eritrocitaria suele contrarrestar el efecto de la hemodilución y producir un ligero aumento del valor del hematocrito.

Dado el carácter fisiológico de la hemodilución en el embarazo, las variaciones del valor hematocrito y la concentración de hemoglobina debidas a este fenómeno deben ser interpretadas siempre en función de la semana de gestación o del trimestre evaluado (tabla 5.2). El mecanismo que produce la hemodilución no es del todo bien conocido, aunque los estudios experimentales parecen demostrar la existencia de factores hormonales. El aumento del volumen sanguíneo gestacional genera siempre un aumento del metabolismo y de perfusión de la unidad fetoplacentaria, por lo que se requiere un mayor aporte de factores nutricionales con la dieta. Por ello, las causas que pueden producir un trastorno de la eritropoyesis durante la gestación son esencialmente de naturaleza carencial, y más rara vez por coexistencia de enfermedades genéticas del eritrocito, cuya expresividad clínica puede exacerbarse con la gestación (talasemia, eritroenzimopatías, entre otras). Así, la anemia del embarazo es, en la mayoría de casos, hiporregenerativa, debida a un trastorno de la maduración eritroblástica por carencia de hierro, folato o ambos. Un embarazo normal requiere un total de 1 g de hierro, que debe ser ingerido diariamente con los alimentos. Al inicio del embarazo se requiere una absorción diaria de hierro que oscila entre 1,5 y 2 mg/día, cantidad que puede llegar a ser de 5 a 7 mg/día desde el final del segundo trimestre hasta el momento del parto[14,15]. Aproximadamente la mitad de este hierro es utilizado en el aumento del volumen sanguíneo, y el resto se reparte entre el desarrollo del feto y las necesidades surgidas de la hemorragia durante el parto. Estos requerimientos superan con creces los depósitos normales de hierro de una mujer ya de por sí deficitarios por efecto de las menstruaciones antes del embarazo. Por ello, durante el embarazo, y especialmente a partir del segundo trimestre, siempre es aconsejable administrar una dosis profiláctica diaria mínima de 60 mg de hierro elemental (sulfato ferroso).

Una carencia de folato, al igual que el déficit de hierro, puede complicar el curso del embarazo con una anemia carencial, pero, en este caso, ésta puede asociarse a defectos congénitos del tubo neural y fisura del paladar en el feto. Se ha sugerido que el déficit de folato puede ser causa de otras alteraciones, como *abruptio placentae*, bajo peso y otras malformaciones, pero la relación no ha sido claramente demostrada. Para prevenir estos defectos, es recomendable que toda mujer con intención de tener hijos a corto plazo tome una dosis profiláctica de 0,4 mg de folato al día algún tiempo antes de quedar embarazada[15].

El déficit de folato durante el embarazo es mucho menos frecuente que el de hierro. Sin embargo, las reservas de folato del organismo son escasas, y un aumento de consumo las agota rápidamente. Además, las náuseas y vómitos que con frecuencia presenta la mujer embarazada pueden disminuir su ingesta y agravar el déficit. La anemia folicopénica se manifiesta, generalmente, durante el tercer trimestre o en el puerperio inmediato, y suele caracterizarse por la macrocitosis (VCM elevado) y su posible asociación a leucopenia y plaquetopenia. El aumento del VCM, no obstante, puede hallarse enmascarado cuando coexiste una ferropenia. En este caso, la anemia suele ser normocítica (VCM normal), pero si se observa una extensión de sangre, se aprecian los rasgos dismórficos característicos del trastorno madurativo que padece la eritropoyesis. Su incidencia es múy variable, dependiendo del área que se trate; en España, aunque no hay estudios de suficiente entidad, los aportes vitamínicos que habitualmente reciben hoy día las mujeres embarazadas son suficientes para completar sus necesidades. La dosis profiláctica mínima durante el embarazo debe ser de 0,8 mg de folato al día, y si existe folicopenia demostrada, antecedentes de embarazo con defectos del tubo neural o historia familiar con estos defectos, esta cantidad debe aumentarse hasta 4 mg de folato al día durante todo el embarazo.

El déficit de vitamina B_{12} es poco frecuente en el embarazo, excepto en el caso de que coexista con una causa capaz de producirlo como, por ejemplo, la anemia perniciosa. Debe señalarse que la práctica de la prueba de Schilling no es aconsejable durante el embarazo, debido al empleo de isótopos radiactivos.

Finalmente, otras causas de anemia no debidas a la carencia de factores madurativos son raras en el embarazo. Entre ellas destacan la aplasia de médula ósea (afectación de progenitores hematopoyéticos) con pancitopenia, o la eritroblastopenia (aplasia pura de serie roja), que pueden aparecer en el curso del embarazo y desaparecer espontáneamente poco después del parto. Aunque ambos trastornos pueden recidivar en ulteriores embarazos, en general no vuelven a aparecer. En ambos casos, la etiología es desconocida. Por último, hay que recordar que durante el embarazo pueden ponerse en evidencia ciertos trastornos congénitos del eritrocito que, hasta entonces, habían pasado desapercibidos desde el punto de vista clínico. Entre ellos, destacan ciertas formas de talasemia, hemoglobinopatías (HbS, principalmente) esferocitosis hereditaria, relativamente frecuente en nuestro país, y déficit de piruvato cinasa (PK) eritrocitaria. En este último caso, se trata generalmente de mujeres portadoras heterocigotas de la enzimopatía que, por un mecanismo desconocido, sufren una activación del gen deficitario, con disminución de la actividad PK y hemólisis sólo durante el embarazo. Este fenómeno puede producirse también en mujeres homocigotas o doble-heterocigotas para dos alelos mutados, cuya expresividad clínica una vez desencadenada durante el embarazo persiste ya durante el resto de la vida. Debe señalarse también que, aunque de observación poco frecuente en nuestro medio, las mujeres portadoras de HbS homocigota (HbSS) o heterocigota (HbSC o de HbS-talasemia) presentan un riego elevado de padecer crisis de drepanocitosis o anemia falciforme. Estas crisis son fundamentalmente vasooclusivas, y pueden desencadenarse en el curso de una infección intercurrente. Generalmente, se asocian con tromboflebitis o preeclampsia, y consisten en la aparición brusca de dolores muy agudos en el abdomen, tórax, columna vertebral o extremidades[15].

Edad adulta

En los adultos de edad superior a los 50 años, las causas de anemia pueden ser muy diversas, y muchas veces difíciles de establecer. En este grupo de pacientes siempre es muy importante considerar la existencia de una posible enfermedad de base que explique la existencia de la anemia. La profesión (contacto con disolventes, plomo y otros tóxicos), las características de la dieta (hierro, folato), o los hábitos (alcoholismo, tabaquismo, ingesta de drogas) del paciente, son datos que pueden ser trascendentales para realizar la orientación diagnóstica. Otro aspecto que se debe considerar en la anamnesis es la existencia de la ingesta reciente de medicamentos. Son diversos los compuestos que pueden actuar sobre la médula ósea o sobre los eritrocitos (mecanismo inmune) y dar lugar a anemia. Asimismo, puede ser fácil, si no se presta la debida atención, confundir una anemia carencial en fase de crisis reticulocitaria por ingesta de hematínicos con un proceso hemolítico. En este caso, la historia de anemia moderada y de evolución relativamente reciente en un paciente con vitíligo y antecedentes de tiroiditis u otra enfermedad autoinmune es orientativa de anemia perniciosa. Por el contrario, una anemia de inicio larvado y carácter crónico, si va acompañada de hemoglobinuria, es altamente sugestiva de hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN). Si la crisis de hemólisis es intensa y va asociada con trastornos neurológicos y de coagulación intravascular diseminada (CID), la orientación diagnóstica es de púrpura trombótica trombocitopénica (PTT). En caso de hepatopatía crónica, una marcada vascularización superficial en el abdomen es indicativa de hipertensión portal, muchas veces asociada con esplenomegalia. En sujetos ancianos, la anemia crónica puede ser orientativa de un proceso inflamatorio crónico de índole reumática o de una neoplasia de evolución solapada. Aunque los procesos neoplásicos suelen manifestarse a través de sintomatología propia y, ocasionalmente, de visceromegalias, existen tumores que se caracterizan por un período de evolución subclínica relativamente prolongado. En tales casos, la anemia y un ligero aumento de la VSG suelen ser los únicos signos del proceso. Así sucede, por ejemplo, en el tumor renal (hipernefroma) o en el cáncer de páncreas. Asimismo, no es infrecuente observar anemia, a veces intensa, en el curso de la insuficiencia renal (aguda o crónica), aunque los valores de concentración de creatinina o BUN en plasma no sean excesivamente llamativos, o de insuficiencia endocrina (hipotiroidismo o hipertiroidismo, hipoadrenalismo e hipopituitarismo). Hay que destacar que el hipotiroidismo subclínico (sólo detectable mediante las pruebas de función tiroidea) constituye también una causa relativamente frecuente de anemia normocítica, especialmente en las mujeres.

Finalmente, otra causa que no debe olvidarse al realizar el estudio de una anemia de origen desconocido es la posible infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), especialmente cuando se asocia con fiebre de origen desconocido.

En el anciano (> 70 años), la anemia es una situación relativamente frecuente, y su prevalencia aumenta con la edad, de forma que suele observarse en más del 80% de individuos con más de 80 años[16]. Sus causas más frecuentes son las enfermedades crónicas, los trastornos carenciales (déficit de hierro, folato o vitamina B_{12}) y la mielodisplasia (SMD). De ellas, la

más difícil de detectar es el déficit de vitamina B_{12}, ya que en una elevada proporción de casos, la concentración de esta vitamina en plasma es normal (déficit latente de cobalamina). La determinación del metilmalonato y la homocisteína séricos suele ser especialmente útil, ya que suelen aumentar significativamente en el déficit latente de cobalamina (y folato), e incluso antes de que aparezcan signos clínicos o biológicos de la carencia vitamínica[17,18]. La mayor incidencia de anemia en el anciano está considerada por algunos como un proceso evolutivo inherente a la edad y ligado a la disminución en la síntesis de Epo (anemia senil). No obstante, existen por lo menos dos causas para considerar la anemia del anciano como un signo de enfermedad. En primer lugar, una elevada proporción de ancianos presenta valores de concentración de hemoglobina dentro de los límites de referencia propios de una población normal. En segundo lugar, en prácticamente todos los casos de ancianos con hemoglobina por debajo de 120 g/L se encuentra una enfermedad subyacente que explica la existencia de anemia. Probablemente, la llamada anemia de las enfermedades crónicas (AEC) sea la principal causa de anemia en el anciano, sobre todo en los ingresados en centros sanitarios[19]. Otra causa relativamente frecuente es la mielodisplasia o trastorno madurativo de la serie mieloide de origen idiopático, y que, junto con la anemia, suele ir acompañado de leucopenia y plaquetopenia. El concepto de *anemia de las enfermedades crónicas* (AEC), llamada también *anemia inflamatoria*, fue aportado hace unos 150 años por Andral y Cavarret, y en ella intervienen, además de una mala utilización del hierro de depósito, una insuficiente eritropoyesis y una excesiva destrucción de eritrocitos en la periferia o hemólisis. Esta anemia, casi siempre normocítica y normocroma, se caracteriza por su carácter moderado (concentración de hemoglobina entre 80 y 110 g/L) y reticulocitos normales o discretamente disminuidos. Raras veces es asintomática, y sus manifestaciones clínicas son las propias de la enfermedad de base. Su característica bioquímica fundamental es una peculiar alteración del metabolismo del hierro consistente en una disminución de la sideremia, con normalidad o aumento de los depósitos. Esta hiposideremia es motivo de que, con mucha frecuencia, estos enfermos sean diagnosticados de ferropenia, tratados con hierro oral, obviamente con escasa o nula respuesta. Cabe destacar que en prácticamente todos estos casos, la hiposideremia va acompañada de concentración de transferrina normal o incluso disminuida, por lo que su índice de saturación por el hierro es normal o incluso elevado, fenómeno contrario al que se observa en la ferropenia verdadera. El origen del trastorno puede ponerse fácilmente de manifiesto mediante el estudio de los depósitos de hierro con métodos indirectos (ferritina sérica) o directos (hierro macrofágico de la médula ósea). En este último caso, la tinción de Perls (azul de Prusia) del aspirado de médula ósea mostrará, junto con un aumento del hierro en los macrófagos, una marcada disminución del número de sideroblastos. Además de las alteraciones comentadas, las concentraciones de factores séricos, llamados reactantes de fase aguda, se hallarán casi siempre elevadas, incluyendo la de la misma ferritina, que constituye también uno de estos factores reactantes. Debido a ello, la tinción de Perls del aspirado medular constituye el único procedimiento eficaz para acabar de perfilar el origen de la anemia seudoferropénica que presenta el enfermo.

El mecanismo fisiopatológico de la AEC ha sido motivo de numerosos estudios recientes, y en un principio fue atribuida al bloqueo del hierro por los macrófagos, hoy en día se considera que éste es una consecuencia de la acción de una proteína sintetizada por el hígado, denominada hepcidina, que degrada el transportador de hierro de la membrana (ferroportina) e impide la salida del mismo del interior celular[20]. También se ha atribuido el efecto de diversas citocinas involucradas en la respuesta inflamatoria, que podrían ejercer diversas acciones inhibitorias sobre la eritropoyesis. Otros factores con potencial actividad inhibidora sobre la eritropoyesis son la interleucina 6 (IL-6) y el factor de crecimiento beta. Junto a ello, parece existir también una disminución de la síntesis de Epo por parte del riñón. Como es sabido, la disminución de la concentración de hemoglobina en sangre genera una respuesta inmediata consistente en un aumento de la síntesis de Epo. En la AEC, la relación entre la concentración de hemoglobina y Epo se pierde, y, aunque esta última aumente ligeramente, nunca es la que se observa, por ejemplo, en la anemia ferropénica, para un mismo grado de anemia. Debido a ello, en la AEC suele observarse una buena respuesta a la administración de eritropoyetina humana recombinante (Epo-rh, 50 a 150 mU/kg tres veces por semana). Esta disminución de la respuesta eritropoyetínica del riñón se atribuye a un efecto inhibidor de las citocinas sobre la transcripción del RNAm necesario para la síntesis de Epo. Junto con la disminución de la eritropoyesis y la inhibición de la síntesis de Epo, es posible que existan también otros factores que pueden ejercer cierto efecto en la intensidad de la anemia, como, por ejemplo, la disminución de la sensibilidad de los progenitores eritroides al efecto de la Epo o un discreto grado de hemólisis

Influencia de las enfermedades sistémicas

Hepatopatías crónicas

Las alteraciones hematológicas son, prácticamente, una constante en la hepatopatía crónica (HC), cualquiera que sea su origen. Evidentemente, no quedan limitadas a la serie roja sino que también se afectan los leucocitos, las plaquetas y la síntesis de diferentes factores de la coagulación. Sin embargo, en este capítulo se revisarán únicamente las distintas causas que puede tener la anemia que acompaña a la hepatopatía crónica.

Las alteraciones medulares que pueden encontrarse en un paciente afectado de HC pueden obedecer a dos causas principales: por una parte, la anemia –con un componente hemolítico más o menos importante– que se traduce en una hiperplasia compensadora de la serie roja y por otra, la pérdida de hierro que se acompaña de una disminución del hierro en los depósitos. Los defectos en el metabolismo del folato pueden hacer aparecer rasgos megaloblásticos. Sin embargo, en la médula ósea del paciente con una HC de origen alcohólico pueden observarse también signos diseritropoyéticos como, por ejemplo, sideroblastos en anillo, eritroblastos vacuolizados o multinucleados. En este caso, los depósitos de hierro pueden estar aumentados, y las células plasmáticas pueden atesorar hemosiderina. Se ha observado que el etanol produce una disminución del crecimiento de colonias eritroides *in vitro* lo que puede explicar la existencia de hipoplasia medular o de serie roja (eritroblastopenia). Las alteraciones diseritropoyéticas se suman a las diferentes causas de anemia que coexisten en una HC de origen alcohólico, cerrando un círculo vicioso.

Una de las consecuencias de la hipertensión portal es la aparición de esplenomegalia. Su papel en la génesis de la anemia del paciente con HC se comenta en el Capítulo 41.

Aunque esplenomegalia no implique directamente hiperesplenismo, el crecimiento esplénico puede, por sí mismo, producir un secuestro considerable de eritrocitos (y de plaquetas y leucocitos) que contribuye a la anemia del paciente hepatópata. El hiperesplenismo, entendido como exageración de la función caterética normal del bazo, contribuye a la destrucción de los eritrocitos y, por tanto, a una anemia de tipo hemolítico extracorpuscular, que se pone de manifiesto con un descenso de la haptoglobina (al que contribuye, además, el déficit de síntesis hepática), reticulocitosis, aumento de la bilirrubina indirecta, de las LDH y disminución de la viabilidad eritrocitaria. Sin embargo, el grado de hemólisis suele ser moderado[21]. Parte de las alteraciones hemolíticas de la HC se deben a los trastornos lipídicos de la membrana eritrocitaria, que condiciona la aparición de varios tipos de eritrocitos característicos, pero no específicos de la HC: los leptocitos, células macrocíticas de espesor disminuido (dianocitos o eritrocitos en diana), los acantocitos (*spurr cells*) y la macrocitosis. La formación de acantocitos sólo se observa en los casos más avanzados de enfermedad hepática, y muy especialmente en la hepatopatía alcohólica descompensada, en la que puede observarse una anemia hemolítica muy intensa, con marcada acantocitosis (fig. 5.4). Las alteraciones de membrana de los acantocitos implican una dificultad para el paso a través del filtro esplénico, donde son destruidos.

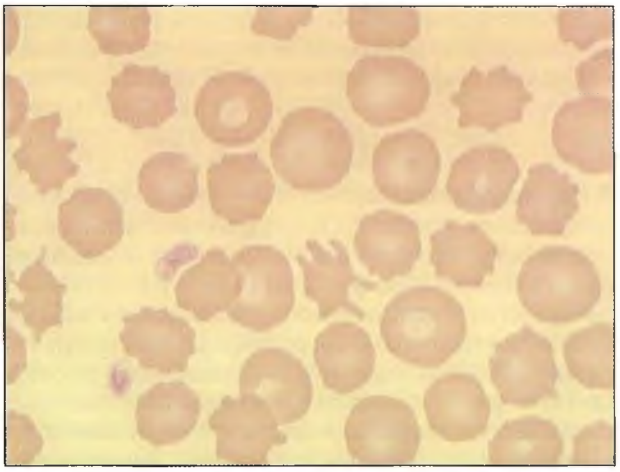


Figura 5.4. Acantocitos (*spurr cells*).

El sangrado digestivo (varices esofágicas) es la principal causa de anemia ferropénica en el paciente con HC. Sin embargo, la ferropenia puede no tener una traducción directa en el hemograma en forma de microcitosis e hipocromía, debido al déficit concomitante de folato o a las alteraciones causantes de macrocitosis descritas en el párrafo anterior. La ferropenia puede ser difícil de diagnosticar con los parámetros analíticos habituales: la ferritina puede elevarse como reactante de fase aguda o como consecuencia de la necrosis hepática, al igual que sucede con la sideremia. La concentración de transferrina puede ser baja como consecuencia de la disminución de su síntesis hepática. La protoporfirina eritrocitaria libre (PEL) puede aumentar si la hepatopatía crónica es de origen alcohólico. En ocasiones, sólo el aspirado medular con tinción de Perls permite valorar cuál es el estado real de hierro del organismo, y si existe un bloqueo en su incorporación a los eritroblastos.

En la HC, el déficit de folato también puede contribuir a la macrocitosis y a la anemia. La mayoría de veces, el déficit de folato se debe a una causa nutricional, pero, además, el alcohol interfiere de forma directa con el metabolismo de los folatos (malabsorción, falta de síntesis de poliglutamatos, falta de liberación de folato a la circulación, aumento de la excreción urinaria). Sin embargo, el factor más importante es la dieta carencial. En contraste con el déficit de folato, en la HC raras veces se observa un déficit de cobalamina. Por el contrario, no es infrecuente que la concentración plasmática de cobalamina se eleve, en parte como resultado de la misma lesión hepática.

La anemia hemolítica autoinmune es infrecuente en la HC de origen alcohólico. Sin embargo, en casos de HC secundarias a la infección por el VHC se han descrito casos de anemia hemolítica por anticuerpos calientes. También se han descrito casos de anemia hemolítica de tipo inmune en la cirrosis biliar primaria y en la hepatitis crónica activa. Se han descrito algunos casos de anemia perniciosa en pacientes con cirrosis biliar primaria.

Insuficiencia renal

La anemia es un acompañante, casi constante, de la insuficiencia renal crónica. Su intensidad es, aproximadamente, proporcional a la gravedad de la afección renal, pero no es infrecuente que con una concentración plasmática de creatinina de 2 mg/mL la anemia ya sea valorable. Tampoco el aclaramiento de creatinina proporciona una base sobre la que extrapolar la gravedad de la anemia, pero es habitual que con un aclaramiento inferior a 20 mL/min la hemoglobina sea inferior a los 100 g/dL. A la anemia de la insuficiencia renal crónica contribuyen varias causas, de las que la más importante es el déficit en la producción de eritropoyetina (Epo). Sin embargo, existen otros factores que contribuyen a la aparición de la anemia, como la reducción de la viabilidad de los eritrocitos, la alteración de la médula ósea y las pérdidas crónicas de sangre[22]. La alteración en la función excretora del riñón desempeña un papel en el origen de la anemia. Así, aunque no se hayan identificado los factores responsables, el medio ambiente metabólico en que deben moverse los eritrocitos en el paciente urémico motiva la disminución de la viabilidad de estas células. A pesar de las alteraciones metabólicas propias de la insuficiencia renal crónica, sólo se observan alteraciones funcionales en dos de las enzimas de los eritrocitos: la transquetolasa (TK), una enzima de la vía de las pentosas, y una ATPasa (enzima de la membrana). El déficit de TK condiciona una disminución de la protección del eritrocito ante un estrés oxidativo. Por otra parte, la disminución de la actividad ATPasa altera la permeabilidad de la membrana para el Na^+ y el K^+, hecho que confiere una mayor rigidez al eritrocito. Ambos déficit enzimáticos comportan una disminución de la viabilidad eritrocitaria.

Aunque no se dispone de un agente causal plausible, parece evidente que la uremia condiciona cierto grado de hipofunción medular. El hiperparatiroidismo secundario a la insuficiencia renal condiciona, por su parte, una fibrosis medular que disminuye la cantidad de tejido con capacidad hematopoyética. Sobre la correcta función medular influyen también las pérdidas crónicas de sangre, la pérdida de ácido fólico en la hemodiálisis y la toxicidad por el aluminio, que compite con el hierro por su incorporación a las células eritroides. Además, en caso de proteinuria puede perderse transferrina por la orina (junto con haptoglobina y Epo), con lo que el transporte del hierro circulante, ya de por sí deficitario, se altera aún más. Hasta

una tercera parte de los pacientes afectados de insuficiencia renal crónica sufren un sangrado gastrointestinal o ginecológico crónico, que se suma a las pérdidas de hierro en los circuitos de diálisis. A este sangrado contribuye la llamada gastritis urémica, pero, además, la función plaquetaria está también alterada, como se pone de manifiesto en la anormalidad de las pruebas de adhesividad y agregación plaquetarias. Tampoco se ha identificado el agente o agentes causales de esta trombocitopatía, pero las alteraciones desaparecen con la diálisis. El sangrado crónico acaba condicionando un déficit de hierro, que presta un componente de ferropenia a la anemia de origen renal. Como se expondrá más adelante, el aporte de hierro para la corrección de la anemia no se basa sólo en la corrección de la ferropenia debida al sangrado crónico sino también, y sobre todo, en el aporte de hierro necesario para cubrir las necesidades que implica la estimulación de la eritropoyesis por la Epo.

Sin embargo, el principal factor etiológico de la anemia de la insuficiencia renal crónica es el déficit de Epo. Aunque incluso en casos de anemia grave puede detectarse en sangre la presencia de una cantidad valorable de Epo, su concentración es absolutamente inadecuada para compensar la anemia. Los estudios de hibridación y de localización de RNAm han localizado la producción de Epo en el intersticio cortical del riñón, en células que empiezan a expresar RNAm para la síntesis de Epo al poco tiempo del desarrollo de la hipoxia. En el enfermo renal, la disminución en la síntesis de Epo corre más o menos paralela al grado de disminución de la función renal, hasta llegar a un punto en que, incluso con una función excretora prácticamente nula, la Epo sigue manteniendo cierto grado de estímulo eritropoyético. Las lesiones renales que con mayor frecuencia producen más anemia son las que afectan a la región glomerular, como sucede en la amiloidosis y en la nefropatía diabética.

La anemia de la insuficiencia renal crónica es normocítica y normocroma, hiporregenerativa, con leves alteraciones en la morfología de los eritrocitos, observándose algún equinocito (*burr cell*) y esquistocitos o eritrocitos fragmentados (fig. 5.5). La concentración de haptoglobina también puede estar algo disminuida, no sólo por la moderada hemólisis sino también por las pérdidas urinarias en caso de proteinuria nefrótica acompañante. La concentración de Epo plasmática suele hallarse disminuida, y el metabolismo del hierro presenta alteraciones variables según se vaya desarrollando la eritropoyesis ferropénica. En caso de que no exista una pérdida real de hierro, la sideremia y la transferrina presentarán una concentración plasmática dentro de los límites de normalidad, con valores algo elevados de ferritina. La médula ósea puede mostrar una morfología normal, aunque casi siempre disminuida, y la tinción de Perls permite conocer cuál es el estado de los depósitos de hierro.

Aunque la anemia de la insuficiencia renal crónica puede mejorar ligeramente con la diálisis y con la administración periódica de andrógenos, desde el final de la década de 1980 la piedra angular del tratamiento ha consistido en la administración de Epo recombinante humana (Epo-rh). La administración de Epo-rh no sólo ha conseguido mejorar la anemia del paciente con insuficiencia renal sin tener que recurrir a las transfusiones sanguíneas (o disminuyendo notablemente su número), sino que también ha corregido otras alteraciones más difíciles de valorar, pero que se englobarían en el amplio concepto «calidad de vida». Efectos más concretos son la disminución de la trombocitopatía urémica, de la hipertrofia ventricular izquierda y de la morbilidad de origen cardiovascular, la mejora de la función sexual y de la capacidad de ejercicio, y la reducción de la fibrosis de la médula ósea.

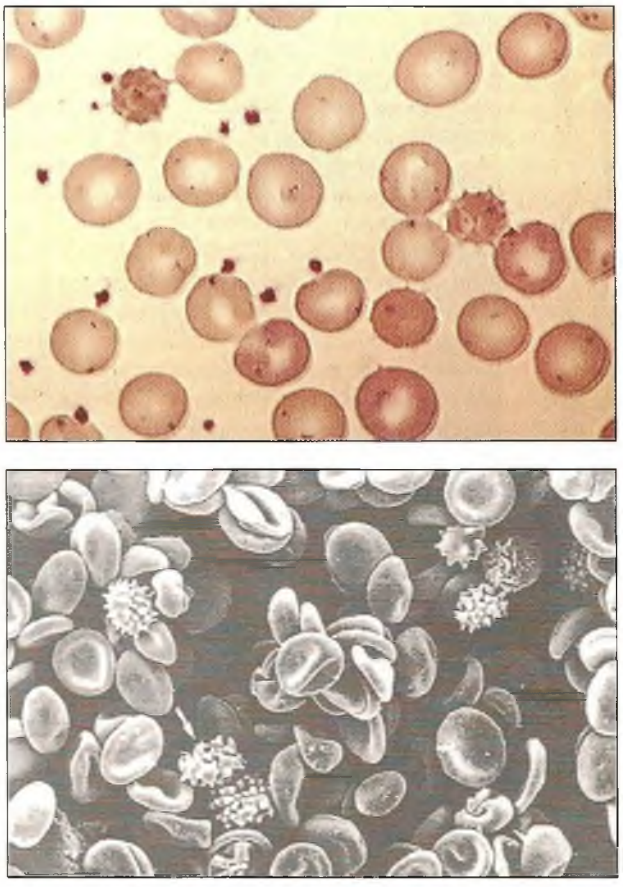


Figura 5.5. Equinocitos (*burr cells*).

En 1999, la European Renal Association y la European Dialysis and Transplant Association editaron una guía con 18 directrices para un mejor tratamiento con Epo-rh de los pacientes con fracaso renal crónico. En ellas se fija que, antes de administrar Epo-rh, se descarten otras causas de anemia (ferropénica: determinación de los parámetros habituales del metabolismo del hierro y/o determinación del porcentaje de eritrocitos hipocromos; megaloblástica: déficit de folatos/cobalamina; hemolítica: haptoglobina, LDH, prueba de Coombs, bilirrubina, reticulocitos; AEC: proteína C reactiva, otros reactantes de fase aguda). La anemia se atribuirá a la insuficiencia renal crónica cuando no se encuentre otra causa que la pueda explicar, después de la interpretación de todas estas variables (diagnóstico por exclusión). Para este diagnóstico, no es imprescindible la determinación de la Epo sérica del paciente. El tratamiento con Epo-rh se iniciará cuando la Hb sea inferior a 110 g/L, aunque en pacientes que inicien diálisis peritoneal se debe esperar un período de 3 meses, ya que no es infrecuente que con este tipo de diálisis se produzcan aumentos de la cifra de Hb. El inicio temprano del tratamiento con Epo-rh tiene gran importancia desde el punto de vista de la prevención o corrección de la morbilidad de causa cardíaca, gracias a la disminución de la hipertrofia ventricular izquierda. Aunque por el momento no se ha fijado un «techo» para la Hb que se debe conseguir, se recomienda no superar los 120 g/L, a menos que la situación clínica del paciente concreto lo indi-

que. Para el mantenimiento de la eficacia del tratamiento con Epo-rh es fundamental que el organismo disponga en todo momento de unas reservas de hierro adecuadas. Se recomienda que la ferritinemia sea superior a 200-500 µg/L, que la saturación de transferrina sea superior al 20% o que el porcentaje de eritrocitos hipocromos sea inferior al 2,5%. Conseguir la corrección de una ferropenia durante el tratamiento con Epo-rh con la administración de hierro por vía oral es difícil. Se recomienda la administración por vía intravenosa lenta al final de la diálisis. En cuanto a las dosis de Epo-rh recomendadas, las directrices europeas recomiendan una dosis inicial de 50 a 150 U/kg/semana (4.000-8.000 U/semana). Estas dosis deben producir un aumento en la Hb de 2-5 g/L/semana, y el objetivo debe ser que su concentración aumente en 10 g/L al mes.

La tolerancia clínica al tratamiento con Epo-rh es excelente. Al principio de su empleo, se describieron en clínica algunos casos de hipertensión, atribuibles en parte a dosis demasiado elevadas del producto. Otro de los efectos adversos es la posible trombosis de la fístula arteriovenosa, aunque no existen estudios controlados sobre este aspecto. Si bien durante los primeros años de empleo de Epo-rh en pacientes con insuficiencia renal crónica no se detectaron casos de aparición de anticuerpos anti Epo-rh, el uso en un número cada vez mayor de pacientes ha hecho que la realidad cambiara. En un reciente estudio europeo se describe la aparición de dichos anticuerpos en pacientes que llevaban por lo menos 3 meses de tratamiento[23]. La consecuencia clínica de estos anticuerpos fue la neutralización de la Epo-rh administrada y una anemia progresiva por aplasia pura de serie roja. Por tanto, en el paciente que desarrolla una anemia en el curso del tratamiento con Epo-rh hay que descartar, entre las habituales causas carenciales o de afección medular primaria o secundaria, la aparición de anticuerpos anti-Epo. Por otra parte, se están desarrollando moléculas de Epo-rh de liberación lenta (darbopoetina) que permitirán su administración sólo una vez a la semana, lo cual redundará en una notable disminución de las molestias para el paciente.

Endocrinopatías

Las hormonas segregadas por las glándulas de secreción endocrina no son factores fundamentales para el desarrollo ni para la función del sistema hematopoyético, pero algunas de ellas pueden ejercer un efecto decisivo sobre la concentración de hemoglobina en sangre. Así, aunque los excesos o defectos en la función de las glándulas endocrinas pueden producir muchos y decisivos trastornos en el organismo, sólo estos últimos parecen afectar al sistema hematopoyético. La anemia de origen endocrino se caracteriza por su carácter normocítico y arregenerativo, con disminución de la concentración de reticulocitos circulantes.

En el *hipotiroidismo* existe una disminución de la eritropoyesis y, por tanto, de la producción de eritrocitos, debido a lo cual suele observarse una ligera anemia normocítica o moderadamente macrocítica. En las mujeres con ferropenia intensa, puede llegar a ser microcítica, y en los hombres, aunque generalmente siempre es normocítica, puede observarse también cierto grado de microcitosis, debido al efecto positivo de la hormona sobre la absorción del hierro. En caso de macrocitosis, si ésta es intensa, debe descartarse la anemia perniciosa, ya que aproximadamente el 10% de estos pacientes la presentan. Esta elevada incidencia se atribuye a la existencia de una reacción cruzada entre los anticuerpos antiparietales del estómago contra las células del tiroides. El mecanismo fisiopatológico de la anemia por hipotiroidismo se relaciona con el efecto de la hormona tiroidea sobre el metabolismo celular. Según esto, un déficit de la hormona disminuye las necesidades de oxígeno de las células del organismo y disminuye la síntesis de eritropoyetina (Epo). Por otro lado, es un hecho conocido que la hormona tiroidea potencia la acción de la Epo sobre los precursores eritropoyéticos, por lo que, cuando su concentración disminuye, este efecto estimulante es menor. Debe señalarse que aunque las hormonas tiroideas estimulan la eritropoyesis, en el hipertiroidismo puede existir también una anemia de escasa intensidad debida a la hemodilución secundaria al aumento del volumen plasmático. Finalmente, no debe olvidarse que los fármacos antitiroideos pueden ser causa de aplasia de la médula ósea por afectación de los progenitores hematopoyéticos.

En el *hipogonadismo* (disminución de andrógenos en los hombres y de estrógenos en las mujeres), sólo se observa anemia cuando disminuyen los andrógenos, mientras que la falta de estrógenos no va acompañada de alteraciones hematológicas. Los andrógenos estimulan la eritropoyesis, y antes de disponer de la eritropoyetina humana recombinante para fines terapéuticos los andrógenos se utilizaban en el tratamiento de las anemias secundarias a la aplasia de la médula ósea, insuficiencia renal y ciertos síndromes mieloproliferativos, como la mielofibrosis idiopática con metaplasia mieloide. El efecto positivo de los andrógenos sobre la eritropoyesis explica también la razón de que los hombres posean una concentración de hemoglobina superior a la de las mujeres (unos 10-20 g/L), aumento que se pone en evidencia durante la pubertad. Las glándulas cuya alteración se asocia con mayor frecuencia con anemia son el tiroides, la hipófisis, las suprarrenales y los testículos.

En el *hipoaldosteronismo* suele observarse una anemia normocítica y normocroma leve, secundaria a la disminución de adrenalina y corticoides, que muchas veces pasa desapercibida por un descenso concomitante del volumen plasmático. El tratamiento con corticoides eleva la producción de eritrocitos. Por otro lado, los pacientes con hiperplasia de las glándulas suprarrenales e hiperproducción de hormonas cursan con eritrocitosis.

En el *hipopituitarismo* o pérdida de la función pituitaria existe una disminución de las hormonas tróficas necesarias para la función del tiroides, testículos y suprarrenales. Debido a ello, esta situación suele ir acompañada de una anemia, generalmente moderada y de carácter normocítico-normocromo. Esta anemia responde bien al tratamiento sustitutivo con hormonas tiroideas, andrógenos y corticoides.

Neoplasias

La anemia es una complicación relativamente frecuente de las neoplasias y enfermedades malignas. En general, la anemia del cáncer se ha considerado como una forma de anemia inflamatoria, aunque en realidad éste es sólo uno de sus posibles mecanismos, ya que la mayoría de veces tiene un origen multifactorial. Para su estudio, los factores causantes de anemia en los procesos neoplásicos se clasifican en tres grandes grupos: directos, indirectos y por efecto del tratamiento. Los factores directos son debidos a la acción del propio tejido neoplásico, y entre ellos destaca el efecto de la invasión neoplásica sobre la médula ósea (metástasis) con reacción desmoide o fibrótica y marcada alteración del microambiente hematopoyético[24,25]. Este efecto, conocido como mieloptisis, puede producir una altera-

ción del proceso que regula la salida de las células de la médula ósea a la sangre, con aparición de un síndrome leucoeritroblástico (leucocitosis con desviación a la izquierda y eritroblastos circulantes). Los factores indirectos son sustancias diversas producidas por las células neoplásicas que, a través de diversos mecanismos, condicionan la aparición de una anemia (tabla 5.9). Ejemplo de estas sustancias son la amiloide, producida por la proliferación de células plasmáticas (mieloma) y los anticuerpos que pueden aparecer en el curso de los síndromes linfoproliferativos crónicos y tumores sólidos[26]. En el primer caso, la sustancia amiloide en exceso desplaza casi por completo al tejido hematopoyético normal, y en el segundo, los autoanticuerpos dan lugar a una anemia hemolítica autoinmune. También puede ser causa de anemia hemolítica el desarrollo de una microangiopatía por depósitos de fibrina, fenómeno relativamente frecuente en el curso de ciertas neoplasias.

Con todo, un trastorno del metabolismo del hierro y el descenso de la capacidad eritropoyética parecen ser aspectos fundamentales en la fisiopatología de la anemia asociada a procesos neoplásicos. En estos casos se ha considerado que el principal factor desencadenante del proceso es la inflamación que acompaña a la neoplasia y, por tanto, el mismo mecanismo que el de la llamada anemia inflamatoria. Actualmente, se sabe que al igual que en ciertos procesos inflamatorios crónicos, las células neoplásicas producen citocinas (TNF, IL-1, IL-6, factor de crecimiento beta, interferón gamma y Epo) responsables de la mala utilización del hierro y de la eritropoyesis insuficiente. La interacción de estas citocinas entre ellas para generar los efectos citados ya se ha comentado al tratar de la AEC, y aunque no es aún del todo bien conocida en el modelo animal, se ha demostrado que la administración de TNF induce cambios en el metabolismo del hierro, superponibles a los que se observan en la anemia del cáncer. Además, se ha observado que la administración de TNF a pacientes con neoplasias metastatizadas reproduce todas las características propias del trastorno de la utilización del hierro. La IL-1, IL-6 y el factor de crecimiento beta parecen actuar suprimiendo la eritropoyesis, pero se desconoce su mecanismo preciso de acción. De acuerdo con todo ello, puede concluirse que la anemia del paciente canceroso constituye la manifestación de una insuficiente respuesta eritropoyética debida, en gran parte, a un fenómeno de regulación hematopoyética mediado por citocinas liberadas por las propias células neoplásicas.

ORIENTACIÓN DIAGNÓSTICA DE LA ANEMIA

El diagnóstico de una anemia requiere, en primer lugar, demostrar la existencia de un descenso de la concentración de hemoglobina mediante un análisis de sangre. En la actualidad, esta magnitud biológica está cuantificada con gran exactitud por la práctica totalidad de los analizadores automatizados existentes en el mercado, por lo que el margen de variación de la concentración de hemoglobina entre diversos equipos bien calibrados es, generalmente, muy estrecho.

Una vez demostrada la existencia de anemia, procede determinar su causa o diagnóstico etiológico. Para ello, la pauta de exámenes complementarios que hay que realizar, debe venir determinada por la integración de los datos aportados por la clínica y el laboratorio (tabla 5.10). Aunque para cada tipo de anemia el número y características de pruebas a realizar varían considerablemente, desde el punto de vista

TABLA 5.10

Magnitudes biológicas generalmente empleadas en la evaluación inicial de un cuadro anémico

SANGRE
- Concentración de hemoglobina
- Fracción de volumen eritrocitario o «hematocrito»
- Índices eritrocitarios (VCM, HCM y CCMH)
- Examen morfológico de las células sanguíneas
- Concentración de eritrocitos, leucocitos y plaquetas
- Concentración de reticulocitos
- Eritrosedimentación (VSG)

PLASMA O SUERO
- Nitrógeno ureico (BUN)
- Creatinina
- Bilirrubina
- Proteínas
- Sideremia
- Transferrina
- Índice de saturación de la transferrina
- Ferritina

ORINA
- Color, pH, transparencia y densidad
- Concentración de proteínas
- Análisis cualitativo de pigmentos biliares
- Microalbuminuria
- Hemoglobinuria y mioglobinuria
- Análisis morfológico del sedimento (leucocituria y hematuria)
- Tinción de Perls del sedimento (hemosiderinuria)

HECES
- Color y consistencia
- Investigación de hemoglobina (melenas)
- Investigación de parásitos

TABLA 5.9

Efectos indirectos de las neoplasias en la aparición de la anemia

Sustancia	Mecanismo	Neoplasia
Sustancia amiloide	Invasión medular	Mieloma
Autoanticuerpos	Anemia hemolítica autoinmune	LCC, leucemias y linfomas malignos, adenocarcinoma
Sustancias procoagulantes	Anemia hemolítica microangiopática	Neoplasias gastrointestinales (mucina), cáncer de próstata

hematológico existen cuatro pruebas de realización obligada, y otras opcionales. Las pruebas obligadas se refieren siempre a los parámetros hematimétricos generales, entre los que destacan el VCM, el examen morfológico de la extensión sanguínea, el recuento de reticulocitos y la velocidad de sedimentación globular (VSG). Las pruebas opcionales son el examen morfológico de la médula ósea y la biopsia ósea.

Volumen corpuscular medio

El VCM, al informar sobre el tamaño de los eritrocitos, es extraordinariamente útil para establecer una primera orientación etiológica y fisiopatológica de la anemia (tabla 5.11). Asimismo, permite la puesta en marcha de las exploraciones complementarias necesarias para realizar el diagnóstico diferencial. La conducta que se debe seguir ante la observación de variaciones del VCM se esquematiza en los diagramas correspondientes a la microcitosis-hipocromía (fig. 5.6), macrocitosis (fig. 5.7) y normocitosis (fig. 5.8).

TABLA 5.11

Causas de variaciones del volumen corpuscular medio

AUMENTO DEL VCM (MACROCITOSIS)

Megaloblastosis
- Déficit de factores madurativos (cobalamina y/o folato)
- Administración de citostáticos
- Hemólisis crónica, generalmente medicamentosa
- Diseritropoyesis con rasgos megaloblásticos
- Síndromes mielodisplásicos
- Hemopatías malignas con megaloblastosis
- Trastornos congénitos de la síntesis del DNA

Causas no megaloblásticas
- Reticulocitosis
- Alcoholismo
- Tabaquismo
- Hepatopatía crónica
- Hipotiroidismo
- Macroglobulinemia de Waldenström
- Enfermedad por aglutininas frías (crioaglutininas)
- Administración de medicamentos
- Déficit de cobre
- Aplasia medular
- Eritroblastopenia (congénita o adquirida)
- Diseritropoyesis sin rasgos megaloblásticos
- Síndrome de Down
- Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)

DISMINUCIÓN DEL VCM (MICROCITOSIS)
- Falta de hierro (ferropenia y anemia ferropénica)
- Trastornos en la síntesis de cadenas de globina
  - Talasemias
  - Hemoglobinopatías con déficit de síntesis
- Trastornos de la utilización del hierro
  - Anemia inflamatoria
  - Anemia sideroblástica (congénita, idiopática o tóxica)
  - Atransferrinemia
  - Anticuerpos antirreceptor de transferrina

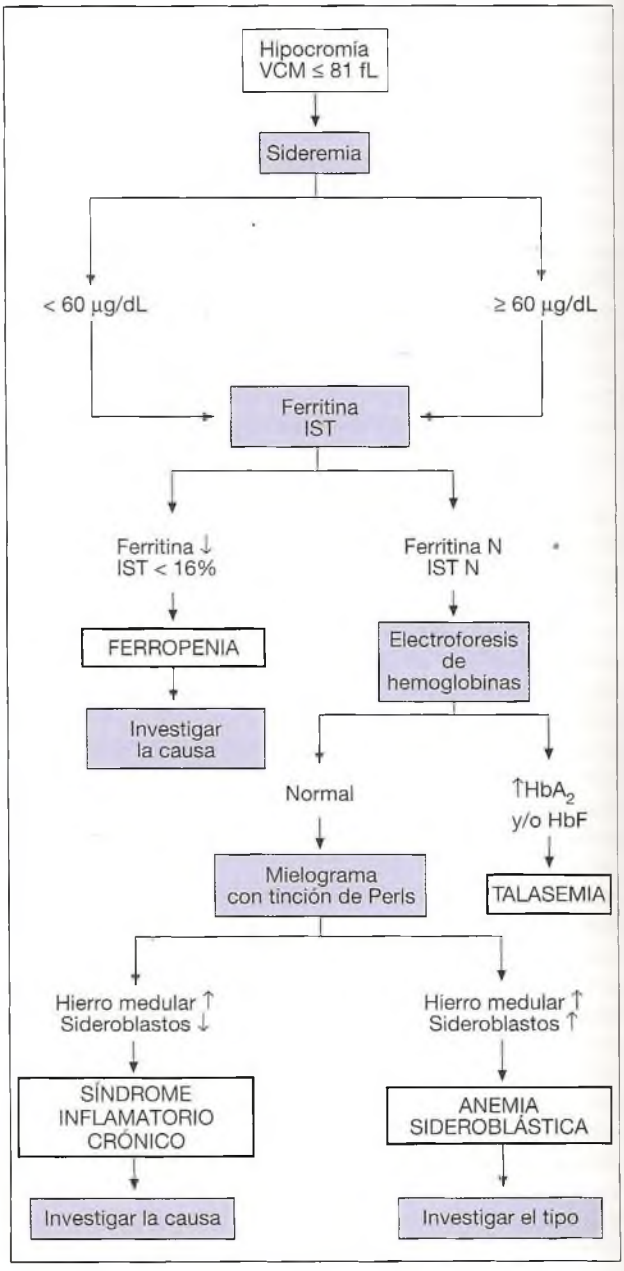


Figura 5.6. Conducta que se debe seguir ante una anemia microcítica e hipocroma.

Recuento de reticulocitos

El carácter regenerativo o arregenerativo de una anemia puede conocerse mediante el recuento de reticulocitos, cuyo valor puede expresarse en porcentaje (valor relativo) o en concentración de número (C) por litro de sangre (valor absoluto). El resultado expresado como valor relativo viene siempre referido a una concentración normal de eritrocitos, y nunca tiene en cuenta la salida prematura de reticulocitos desde la médula ósea a la sangre, como sucede en caso de anemia. Por ello, este valor siempre debe corregirse en función de la intensidad de la anemia, aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{\% de reticulocitos (corregido)} = \text{reticulocitos (\%)} \times \frac{\text{Hto paciente}}{\text{Hto normal}}$$

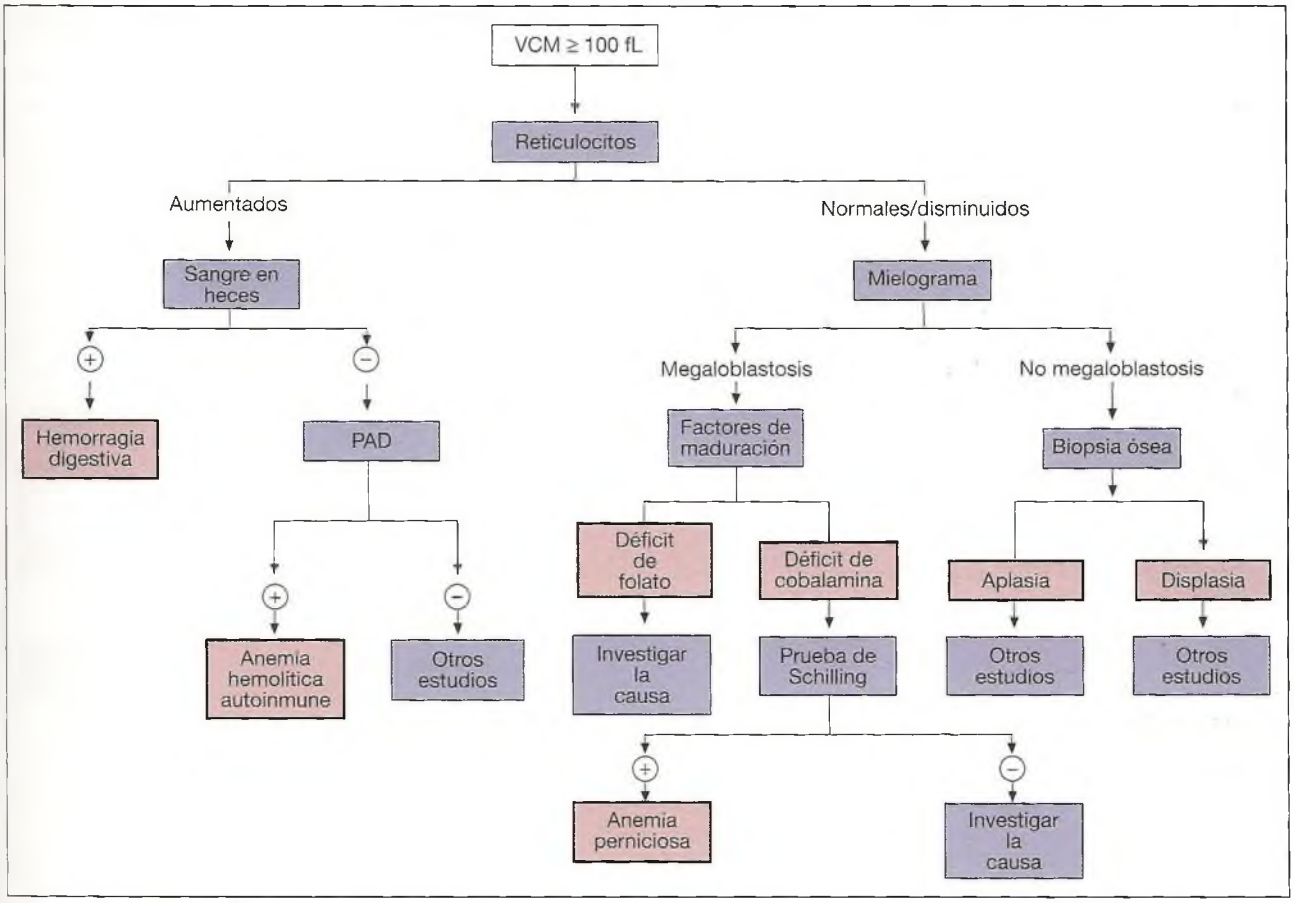


Figura 5.7. Conducta que se debe seguir ante una anemia macrocítica. PAD: prueba de la antiglobulina directa (prueba de Coombs).

Se consideran como valores normales de Hto, 0,45 en el hombre y 0,40 en la mujer. Así, a un recuento de reticulocitos del 6% en un hombre con Hto de 0,25, corresponde un valor corregido del 3,3% (6 × 0,25/0,45). Debe señalarse que este cálculo no tiene en cuenta el error debido a la salida prematura de reticulocitos por estímulo eritropoyético. En condiciones normales, los reticulocitos permanecen unos 4 días en la médula ósea, y cuando salen a la sangre periférica tardan 1-2 días en madurar a eritrocitos. En caso de anemia, debido al estímulo eritropoyético compensador, disminuye el período de maduración intramedular y se alarga el de sangre periférica. Debido a ello, el recuento de reticulocitos presenta un valor superior al real dando una falsa idea de la capacidad real de la médula ósea para hacer frente al descenso del Hto. Para introducir esta nueva corrección basta dividir el valor del recuento de reticulocitos corregido por el período (en días) que tardan los reticulocitos en madurar a eritrocitos (F).

$$\text{\% de reticulocitos (corregido)} = \text{reticulocitos (\%)} \times \frac{\text{Hto paciente}}{\text{Hto normal}} : \text{F}$$

En condiciones normales, el valor de F se considera igual a 1, y aumenta en 0,5 cada vez que el Hto disminuye un 10%. Así, el valor de F sería de 1 para un Hto de 0,45, de 1,5 para un Hto de 0,35, de 2 para un Hto de 0,25, de 2,5 para un Hto de 0,15, y así sucesivamente. En el ejemplo anterior, el recuento de reticulocitos corregido para el Hto y el período de maduración periférica sería de 1,66 (3,3/2), sensiblemente inferior al 6% obtenido sin ningún tipo de corrección.

Alternativamente, puede aplicarse la misma corrección multiplicando el valor del recuento de reticulocitos modificado directamente por un factor de corrección obtenido mediante una gráfica a partir del Hto (fig. 5.9). Cuando se aplican ambas correcciones, el resultado obtenido se conoce también como *índice de producción reticulocitaria* (IPR), ya que el valor obtenido constituye un reflejo de la capacidad regenerativa de la médula ósea frente al estímulo eritropoyético[2]. Así, los valores de IPR inferiores a 1 se consideran indicativos de insuficiente capacidad regenerativa medular, mientras que los valores superiores a 3 son propios de eritropoyesis aumentada. La salida precoz de reticulocitos a sangre periférica antes de terminar su período madurativo intramedular se conoce como desviación reticulocitaria (*reticulocyte shift*) y, generalmente, se reconoce por la observación de eritrocitos grandes (macrocitos) y azulados (policromasia).

Examen morfológico de la sangre

La observación morfológica de una extensión de sangre constituye una exploración imprescindible en el proceso diagnóstico de toda anemia[27]. Ello es así, ya que es el único modo de apreciar las alteraciones morfológicas de los eritrocitos que, muchas veces, constituyen un criterio diagnóstico fundamental (tabla 5.12). Asimismo, cuando se observa la morfología eritrocitaria, nunca debe olvidarse observar también la de los leucocitos y plaquetas, ya que puede aportar una información muy útil en la orientación clínica de ciertas hemopatías que cursan con alteraciones leucocitarias y/o plaquetarias.

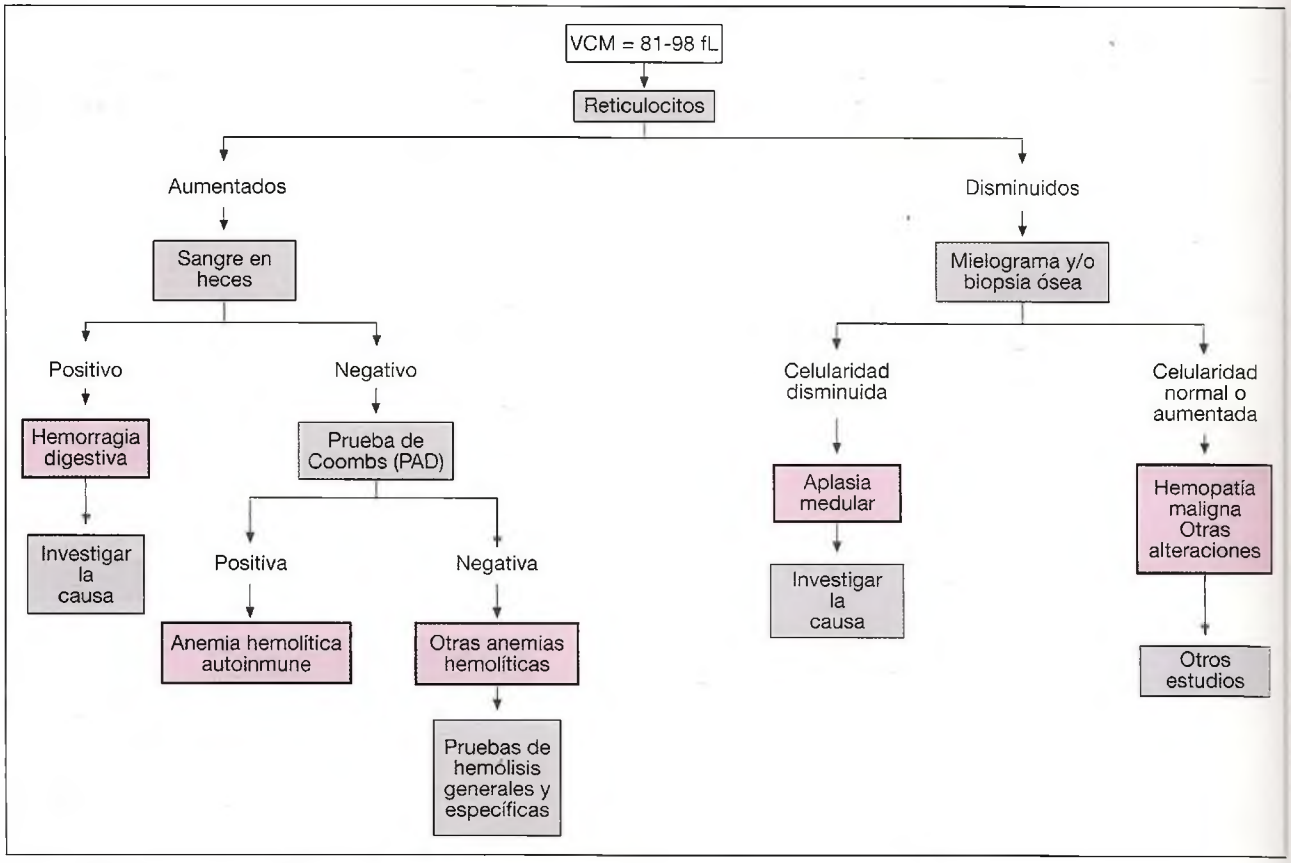


Figura 5.8. Conducta que se debe seguir ante una anemia normocítica.

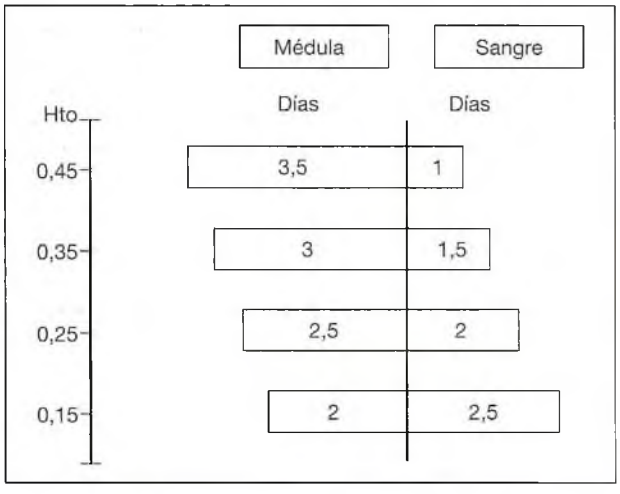


Figura 5.9. Variaciones del tiempo (días) de maduración reticulocitaria en la médula ósea y sangre periférica en función del hematocrito (Hto). Los valores de sangre periférica se emplean en el cálculo del índice de producción reticulocitaria (IPR).

Velocidad de sedimentación globular

La VSG es una magnitud de carácter inespecífico pero que, por su simplicidad, puede ser de gran utilidad en el diagnóstico de ciertas anemias y, en especial, de todas aquellas relacionadas con procesos inflamatorios crónicos y reumáticos (polimialgia reumática o enfermedad de Horton), paraneoplásicos o en las gammapatías monoclonales (mieloma, macroglobulinemia de Waldenström y crioglobulinemia). En todos estos procesos y algún otro (enfermedad de Hodgkin), la VSG se halla muy aumentada, por lo que su determinación constituye un criterio para seguir la evolución del proceso o su respuesta al tratamiento[2].

Examen morfológico de la médula ósea

En determinadas situaciones, el diagnóstico de una anemia exige realizar un examen morfológico de la médula ósea (mielograma) o, en su caso, un estudio histológico (biopsia ósea). El mielograma informa sobre las características morfológicas de los precursores hematopoyéticos y la proporción entre series granulocítica y eritroide (relación normal: 3/1). Con ello, pueden excluirse los trastornos cuantitativos o cualitativos de la hematopoyesis como posibles causas de la anemia (tabla 5.13). La práctica de un mielograma suele complementarse con otras pruebas que facilitan la orientación etiológica de la anemia. Entre ellas, destacan la tinción del hierro (reacción de Perls) para el diagnóstico de ferropenia, anemia refractaria sideroblástica o síndrome inflamatorio crónico, el estudio citoquímico, inmunofenotípico, citogenético o ultraestructural de las células hematopoyéticas, el cultivo *in vitro* de progenitores o los cultivos para gérmenes de la tuberculosis, histoplasmosis o *Mycobacterium avium* para el diagnóstico de fiebre de origen desconocida (FOD) asociada a la anemia.

TABLA 5.12

Alteraciones de la morfología eritrocitaria que suelen acompañar a determinadas enfermedades

Alteración morfológica	Enfermedad
Esferocitos (0-5%)	Esferocitosis hereditaria
Microesferocitos (> 5%)	Anemia hemolítica autoinmune
	Piropoiquilocitosis congénita
	Hemólisis térmica, mecánica o tóxica
Estomatocitos	Estomatocitosis congénita
	Esferocitosis hereditaria
Eliptocitos	Eliptocitosis congénita
	Anemia ferropénica
	Anemia diseritropoyética
	Síndrome mielodisplásico
	Hemopatías malignas
Macroovalocitos	Anemia megaloblástica
Equinocitos	Insuficiencia renal
	Déficit de piruvato-cinasa
Acantocitos	Síndrome de Zieve
	Acantocitosis congénita
	Fenotipo McLeod
	Esplenectomía
Hematíes falciformes	Hemoglobinopatía S
Codocitos (hematíes en diana)	Hepatopatía
	Hemoglobinopatía C
	Talasemias
	Esplenectomía
	Xerocitosis congénita
Dacriocitos	Mielofibrosis
	Esplenomegalia
Esquizocitos	Anemia microangiopática
	Piropoiquilocitosis congénita
	Talasemia
	Hemólisis medicamentosa
	Hemólisis oxidativa
Excentrocitos	Déficit de G6PD
	Xerocitosis congénita
Punteado basófilo	Saturnismo
	Déficit de P5'N
	Talasemia
	Diseritropoyesis
	Anemia regenerativa
Parasitosis	Paludismo
	Babesiosis
	Bartonelosis
Cuerpos de Howell-Jolly	Hipofunción esplénica
	Esplenectomía
	Diseritropoyesis
	Anemia megaloblástica
	Anemia regenerativa
Anillos de Cabot	Diseritropoyesis
	Anemia megaloblástica
Policromasia	Anemia regenerativa
	Aplasia medular
	Anemia megaloblástica

En aquellos casos en los que además de la morfología se requiere conocer aspectos relacionados con la arquitectura medular, la disposición de las células en su conjunto o su proporción global con relación a las células adiposas o al tejido conjuntivo (colágena y reticulina) resulta imprescindible practicar una biopsia medular (tabla 5.14). La biopsia, generalmente practicada mediante aguja de Jamshidi, es imprescindible en el diagnóstico de la aplasia medular y siempre que el aspirado medular no permita obtener el material necesario para estudiar la morfología celular, como sucede en casos de aspirado «blanco» por mielofibrosis (*dry-tap*) o hipercelularidad en ciertas hemopatías malignas (médula empaquetada). A veces, la celularidad apreciada en la biopsia ósea resulta muy diferente de la observada en el simple aspirado medular, ya que mientras éste analiza un área muy limitada de la médula (a veces, un foco eritroblástico o linfoide), la biopsia informa sobre una parcela mucho más amplia del hueso, y permite valorar el estado de las trabéculas óseas, así como las características del tejido hematopoyético existente entre ellas[28,29].

TABLA 5.13

Condiciones en las que el examen morfológico de la médula ósea puede ser de utilidad diagnóstica

- Anemia megaloblástica
- Aplasia medular
- Anemias diseritropoyéticas congénitas
- Hemopatías malignas
  - Leucemias agudas
  - Síndromes linfoproliferativos
  - Síndromes mieloproliferativos crónicos
  - Síndromes mielodisplásicos
  - Gammapatías monoclonales
- Leucopenia persistente
- Trombocitopenia
- Tesaurismosis (enfermedad de Gaucher)
- Mieloptisis (metástasis carcinomatosa ósea)
- Anemia ferropénica *vs* inflamatoria*

*Siempre que el examen morfológico vaya acompañado de la tinción del hierro medular (tinción de Perls).

TABLA 5.14

Indicaciones de la biopsia ósea en hematología

- Aplasia medular
- Mielofibrosis
- Leucemia «aleucémica»
- Síndrome mielodisplásico
- Metástasis carcinomatosa
- Reacción granulomatosa
- Estadificación de síndromes linfoproliferativos
- Inmunodeficiencia (VIH+)

BIBLIOGRAFÍA

1. Lee GR, Foerester J, Lukens, Rodgers GM. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 12.ª ed. Lippincott: Williams & Wilkins, 2004.
2. Vives JL, Aguilar JL. Manual de técnicas de laboratorio en hematología. 2.ª ed. Barcelona: Masson S.A., 1997.

CAPÍTULO 6

Anemia ferropénica y trastornos del metabolismo del hierro

J. L. Vives Corrons y A. Altès

ÍNDICE

Introducción
Distribución del hierro en el organismo humano
Metabolismo del hierro
- Absorción intestinal
- Transporte plasmático
- Penetración intracelular
- Utilización del hierro
- Reservas de hierro

Evaluación del metabolismo del hierro
Anemia ferropénica
- Introducción
- Prevalencia
- Causas de la anemia ferropénica
  - *Fisiológicas*
  - *Patológicas*
  - *Hemorragia digestiva*
- Manifestaciones clínicas
  - *Características de la anemia*
  - *Sintomatología de la ferropenia*
- Diagnóstico de la anemia ferropénica
  - *Hemograma*
  - *Estudio del hierro en sangre*
  - *Estudio del hierro en médula ósea*
- Diagnóstico diferencial
  - *Rasgo talasémico*
  - *Anemia inflamatoria*
  - *Anemia hipocroma hereditaria*
- Tratamiento
  - *Tratamiento etiológico*
  - *Tratamiento sintomático*
  - *Tratamiento preventivo*

Estados de sobrecarga férrica
- Hemocromatosis
  - *Prevalencia y penetrancia*
  - *Etiopatogenia*
  - *Alteraciones genéticas no relacionadas con el gen HFE*
  - *Manifestaciones clínicas*
  - *Diagnóstico*
  - *Tratamiento*
  - *Escrutinio poblacional. Una cuestión de salud pública*
- Sobrecarga férrica secundaria

Bibliografía

INTRODUCCIÓN

El hierro es un metal de transición muy abundante en la Tierra, pero en muy pequeña cantidad en los sistemas biológicos. Ingresa en el organismo humano únicamente con los alimentos, e interviene no sólo en el transporte de oxígeno (hemoglobina) y electrones (citocromos) sino también como catalizador de muchas reacciones necesarias para el desarrollo, diferenciación y proliferación celulares (reacciones enzimáticas, metabolismo oxidativo y crecimiento celular). A pesar de estas importantes funciones que realiza el hierro en el organismo humano, en estado libre es un componente extraordinariamente tóxico por lo que es fundamental el mantenimiento de su homeostasis mediante un equilibrio entre absorción intestinal y control de las reservas. La inexistencia en el ser humano de un sistema capaz de eliminar el exceso de hierro puede facilitar su acúmulo y con ello la lesión de tejidos vitales (corazón, páncreas y tejido hepático, principalmente) de forma que cuando la sobrecarga es excesiva puede poner en peligro la vida del individuo[1].

La absorción del hierro está regulada por las células del epitelio intestinal, y el control de las reservas corre a cargo de un sistema coordinado en el que intervienen varios compartimentos de distribución y tres proteínas de gran importancia funcional que regulan los mecanismos de transporte (transferrina), reserva (ferritina) y utilización del mismo por las células (receptores de la transferrina). La alteración del balance del hierro en el organismo puede tener dos consecuencias diferentes: la disminución de la síntesis de hemoglobina (anemia) o la sobrecarga de hierro, con signos de intoxicación y lesiones parenquimatosas (hemocromatosis).

En el organismo humano, la falta de hierro constituye un trastorno más frecuente que la sobrecarga, y sobreviene como consecuencia del agotamiento de los depósitos (ferropenia), un bloqueo en los depósitos (inflamación crónica), defectos de la síntesis de globina (talasemias) y defectos en la síntesis del grupo hemo (sideroacresia). En general, todos estos trastornos presentan un comportamiento clínico y biológico similar y pueden cursar con anemia microcítica e

hipocroma. Por ello es muy importante realizar siempre el diagnóstico diferencial antes de iniciar cualquier tipo de tratamiento y, muy especialmente, la administración de hierro.

DISTRIBUCIÓN DEL HIERRO EN EL ORGANISMO HUMANO

La cantidad total de hierro del organismo es de unos 3,5 g siempre unido a moléculas diversas, entre las que destacan el grupo hemo de la hemoglobina, que acapara el 65% del total (2,3 g), la apoferritina o proteína de depósito con el 22% (0,8 g) y la mioglobina o proteína muscular con el 10% (0,3 g). El 3% restante (0,1 g) se halla unido a la transferrina (Tf) o proteína de transporte y otras proteínas diversas, como los citocromos, enzimas hemínicas (citocromos, citocromo oxidasa, oxidasa homogentísica, peroxidasas y catalasa) y enzimas no hemínicas (ribonucleótido reductasa, flavoproteínas o proteínas sulfuradas) (tabla 6.1). Aunque sólo el 1% del total de hierro (unos 3 mg) se halla unido a la Tf (hierro circulante) este compartimento es el más dinámico y, por ello, el de mayor trascendencia, ya que cada día mantiene la homeostasis o balance del hierro al transportarlo desde los depósitos (macrófagos) a los eritroblastos para la nueva síntesis de hemoglobina. La formación de 1 mL de eritrocitos precisa, aproximadamente, 1 mg de hierro, por lo que la eritropoyesis consume cada día entre 20 y 25 mg. Así, diariamente, unos 21 mg del compartimento de reserva se dirigen a la médula ósea para ser utilizados en la síntesis de hemoglobina, y 21 mg procedentes de la destrucción de eritrocitos en el sistema mononuclear fagocítico (SMF) entran a formar parte del hierro de reserva (fig. 6.1).

TABLA 6.1

Distribución del hierro en el organismo humano

	Hombres (mg/kg)	Mujeres (mg/kg)
Hierro hemínico		
Hemoglobina	31	28
Mioglobina (músculo)	5	4
Enzimas hemínicas:	1	1
Citocromo C		
Catalasa		
Citocromo A, A_3 y B		
Peroxidasa		
Hierro no hemínico		
Ferritina	8	4
Hemosiderina	4	2
Proteínas hierro-azufre	1	1
Transferrina	0,2	0,2
TOTAL	50	40

Dado que diariamente existe una pequeña pérdida de hierro (0,6-2 mg) debido a la descamación cutánea e intestinal, caída de cabello, recambio ungueal, sudoración, saliva y bilis, principalmente, es imprescindible un aporte diario para compensarla y evitar una disminución progresiva de los depósitos. Los requerimientos diarios de hierro de un organismo sano para cubrir las necesidades de la eritropoyesis varían con la edad y el sexo, de manera que aumentan durante el crecimiento corporal y por efecto de la menstruación, el embarazo y la lactancia (tabla 6.2). Una dieta normal aporta entre 1 y 1,5 mg de hierro al día, que es una cantidad similar a la que se pierde por los mecanismos fisiológicos antes citados. De acuerdo con ello, y como puede observarse en la figura 6.1, la práctica totalidad del hierro (95-98%) necesario para la eritropoyesis procede de las reservas (macrófagos del bazo, hígado y médula ósea) y sólo el 2-5%, de la absorción intestinal. En la médula ósea, el hierro transportado por la transferrina se une a un receptor específico de la membrana de los eritroblastos (receptor de la transferrina) y, una vez en el interior de la célula, es liberado para unirse a otras proteínas, entre las que destaca la apoferritina, para formar ferritina. La reutilización del hierro supone, por tanto, un flujo diario a través de diferentes compartimentos del organismo, en los que unas veces se halla formando parte del grupo hemo (eritrocitos y mioglobina, principalmente) y otras unido a proteínas no hemínicas (ferritina y transferrina, principalmente). En este circuito los compartimentos con mayor contenido en hierro son el funcional formando parte de la hemoglobina (eritrocitos) y mioglobina (tejido muscular) y el de reserva formando parte de la apoferritina y hemosiderina (macrófagos de médula, bazo e hígado y hepatocitos) (fig. 6.2). El compartimento de

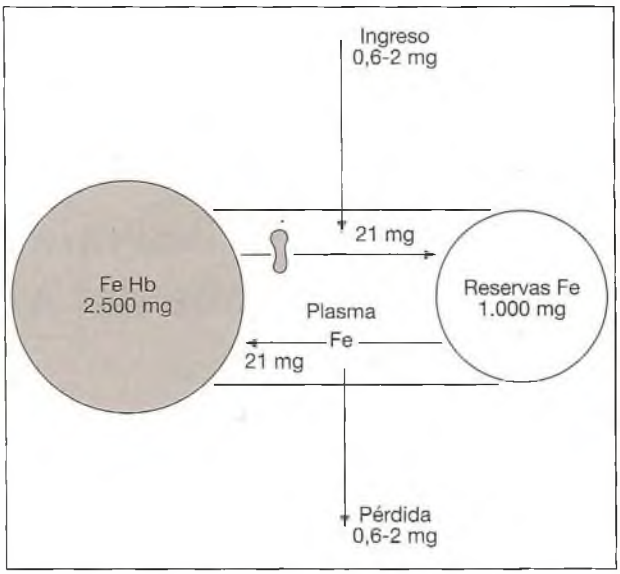


Figura 6.1. Ciclo del hierro en el organismo humano. Equilibrio entre reserva y utilización.

TABLA 6.2

Requerimientos diarios de hierro en la dieta

Niños (1-5 años)	8 mg/día
Niños (5-12 años)	12 mg/día*
Varón adulto sano	10 mg/día*
Mujer en edad fértil	14 mg/día*
Mujer embarazada (último trimestre)	16 mg/día*

*Requieren suplementar la dieta con preparados de hierro.

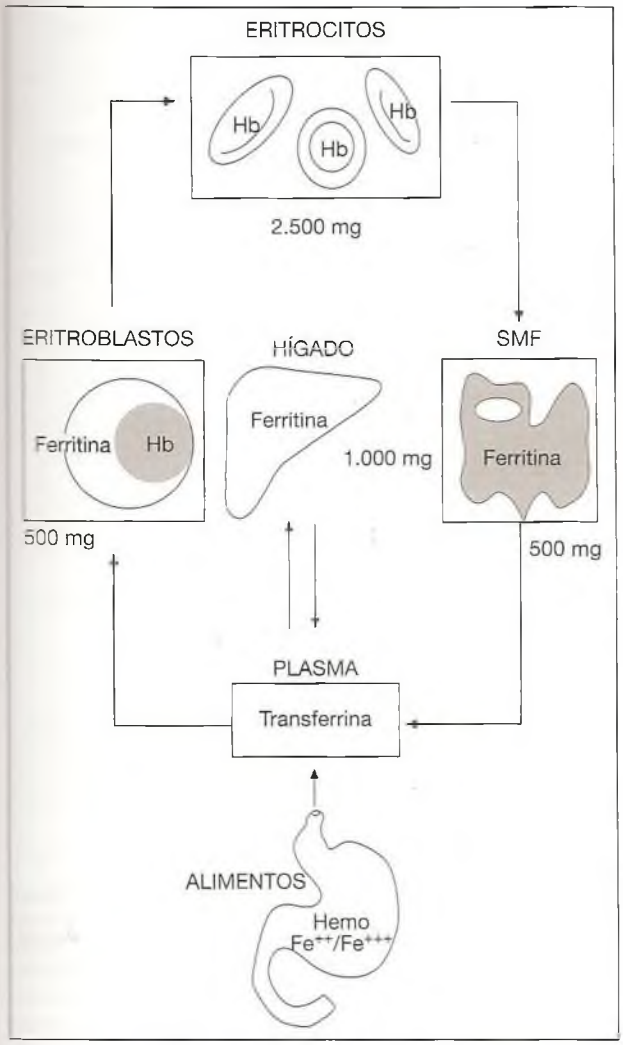


Figura 6.2. Distribución del hierro en el organismo humano. Principales compartimentos.

transporte (transferrina) es el que tiene menor contenido en hierro. El mantenimiento de este equilibrio requiere de una precisa coordinación entre absorción intestinal, transporte, utilización y reserva, al objeto de evitar que un aumento de las pérdidas o de las necesidades de hierro puedan precipitar un agotamiento de las reservas (anemia ferropénica) o una sobrecarga (intoxicación por hierro)[1,2].

METABOLISMO DEL HIERRO

La homeostasis del hierro requiere la acción coordinada de cinco procesos diferentes: absorción, transporte, penetración intracelular, utilización y reserva.

Absorción intestinal

El hierro procedente de la dieta se absorbe en el intestino delgado, en especial en el duodeno y primera porción del yeyuno. Funcionalmente, existen dos vías de absorción intestinal de hierro: la del hierro hemínico y la del hierro no hemínico. La primera se rige por un mecanismo de difusión pasiva, y la segunda está regulada por el contenido de hierro en el propio organismo, la actividad eritropoyética y el grado de hipoxia. Los mecanismos moleculares implicados en esta regulación no son aún del todo bien conocidos, pero los estudios llevados a cabo durante los ultimos años han significado un gran avance.

El hemo liberado de alimentos cárnicos (carne de vaca, pescado o pollo, vísceras, embutidos con sangre animal y yema de huevo, principalmente) es soluble y se absorbe muy fácilmente entrando en la célula intestinal sin alterarse. En ella, la enzima hemooxigenasa rompe la protoporfirina IX y libera el hierro, que se une a la apoferritina para formar ferritina.

El hierro no hemínico procedente de alimentos vegetales, como las verduras, hortalizas, legumbres, cereales, el grano integral, el pan y los frutos secos, se absorbe en forma ferrosa (Fe^{2+}), ya que en forma férrica (Fe^{3+}) interacciona con otros componentes de los alimentos que al formar complejos insolubles, disminuyen su absorción. Entre tales sustancias, presentes en los alimentos, destacan los oxalatos, calcio y fósforo (productos lácteos), fitatos (cereales diversos), tanatos (bebidas tipo té y café) y otras muchas, que disminuyen su absorción. También disminuyen la absorción del hierro los carbonatos y las bebidas carbonatadas, la fibra, las proteínas vegetales, metales capaces de competir con el hierro y ciertos medicamentos (antiácidos, DOPA, y tetraciclinas, principalmente). Por el contrario, otros componentes facilitan o favorecen la absorción de hierro no hemínico como, por ejemplo, el ácido ascórbico (vitamina C), los aminoácidos, el lactato, piruvato, succinato, la fructosa y el sorbitol, todos ellos con propiedades reductoras. Igualmente el jugo gástrico desempeña también un importante papel en la absorción de hierro gracias a la acción de la pepsina y otras proteínas no enzimáticas, como la gastroferrina o el efecto reductor del ácido clorhídrico. Finalmente, otro factor que puede contribuir también a facilitar la absorción de hierro es la propia motilidad intestinal. Debido a todos estos factores que intervienen en la absorción del hierro y a la necesidad de que éste se halle siempre bajo forma reducida para poder absorberse, sólo se absorbe un 10%, aproximadamente, del total de hierro ingerido con la dieta. Así, si una dieta normal contiene entre 6 y 10 mg de hierro por cada 1.000 kcal, la cantidad del mismo que ingresa en el organismo varía entre 15 a 35 mg. En condiciones fisiológicas, de esta cantidad sólo se absorbe el 5-15%, por lo que el hierro aportado diariamente por la dieta oscila entre 1,0 y 2,5 mg (media de 1,5 mg), cantidad prácticamente igual a la que se pierde diariamente por los mecanismos fisiológicos (sudor, descamación, orina, bilis, entre otras vías). Esta absorción puede variar ampliamente en situaciones distintas a la fisiológica, como cuando las reservas del mismo se hallan muy disminuidas, en cuyo caso pueden llegar a absorberse hasta un máximo de 4 mg, o en condiciones patológicas, como la hemocromatosis, en la que pueden absorberse hasta 30 mg de hierro al día. Asimismo, en situaciones de intensa eritropoyesis, como en las anemias hemolíticas y talasemias, la absorción de hierro puede aumentar hasta en un 40% la absorción normal[3].

La absorción del hierro comporta tres etapas: el paso del hierro a través de la membrana apical del enterocito, el paso del hierro al plasma a través de la membrana basolateral, y la regulación global de estos procesos.

Paso del hierro a través de la membrana apical del enterocito. En esta etapa interviene primero una oxidorreductasa férrica o citocromo b duodenal (Citb D) que reduce el hierro de la forma férrica (oxidada) a ferrosa (reducida) para poder ser absorbido. En segundo lugar interviene una proteína transportadora denominada de metales divalentes (DMT1) o de resisten-

cia natural asociada a macrófagos (Nramp2). Esta proteína internaliza el hierro que, una vez en el interior del enterocito, puede almacenarse bajo forma de ferritina o ser transportado hacia el plasma previo paso a través de la membrana basal.

La proteína transportadora DMT1 forma parte integral de la membrana apical del enterocito y realiza el transporte activo de cualquier catión metálico bivalente además del Fe^{++} (Zn, Mn, Co, Cd, Cu, Ni y Pb) (fig. 6.3). Asimismo, posee una región IRE en posición 5' de su RNAm por lo que es regulada por la concentración del hierro de reserva. Así la concentración de DMT1 aumenta en el estado de ferropenia y disminuye en el de sobrecarga. La DMT1 también se halla presente en la membrana de los eritroblastos, donde transporta el hierro hacia el interior del citoplasma previa unión al Fe del complejo Fe-Tf-RTf.

Paso del hierro a través de la membrana basal. En este proceso intervienen también dos proteínas; una cuproproteína con actividad oxidasa llamada hefaestina que realiza la acción inversa a la del Citb D, y otra transportadora o ferroportina 1. La hefaestina es una ferroxidasa, análoga a la ceruloplasmina pero de localización exclusivamente intestinal, cuya función es transformar el hierro ferroso (Fe^{2+}) a férrico (Fe^{3+}) para que pueda unirse a la ferroportina 1 (Ireg1, SLC11A3 o MTP1) proteína integral de la membrana basal del enterocito que transporta el hierro férrico hacia el plasma donde se une inmediatamente a la transferrina (fig. 6.3). La síntesis de hefaestina se halla ligada al cromosoma X y su presencia en el metabolismo del hierro es fundamental, ya que sin posibilidad de oxidación no existe salida posible del hierro hacia el plasma ni de almacenamiento intracelular. Tanto la hefaestina como la ferroportina 1 poseen regiones IRE en posición 5' de su RNAm, por lo que son reguladas por la concentración de hierro del organismo.

Regulación de la absorción del hierro. Como es sabido, el estado de sobrecarga férrica es altamente tóxico para el organismo, por lo que éste posee un mecanismo de defensa basado en la regulación coordinada de diversas proteínas involucradas en la homeostasis del hierro: Rc-Tf, DMT1, ferroportina 1, ferritina, delta-aminolevulínico sintetasa (δ-ALAS) y hefaestina. El elemento regulador esencial de todo este sistema es la propia concentración de hierro del organismo que, por ello, constituye, en sí misma, una «señal reguladora». De esta forma, sería la propia concentración de hierro la que induciría variaciones en la concentración de las proteínas de la homeostasis aumentando o disminuyendo su absorción intestinal (fig. 6.4). Así, el descenso del hierro intracelular aumentaría la síntesis de Rc-Tf y DMT1, ferroportina 1 y hefaestina, y disminuiría la de ferritina y δ-ALAS. De manera inversa, ante un aumento de la concentración de hierro en el organismo disminuiría la síntesis de Rc-Tf, DMT1, ferroportina 1 y hefaestina, y aumentaría la de ferritina y δ-ALAS.

La coordinación de estos procesos corre a cargo de una proteína reguladora del hierro conocida con el hombre de IRP (*Iron Regulatory Protein*). La función de la IRP sería unirse de forma específica a determinadas zonas del RNAm conocidas como IRE (*Iron Responsive Elements*) favoreciendo o dificultando, según el caso, la traducción del RNAm de las proteínas que intervienen en la homeostasis del hierro[4-6]. En el organismo humano existen dos formas moleculares de proteína IRP (tipo 1 o IRP-1 y tipo 2 o IRP-2) pero sólo es IRP-1 la que interviene mayoritariamente en la regulación de la homeostasis del

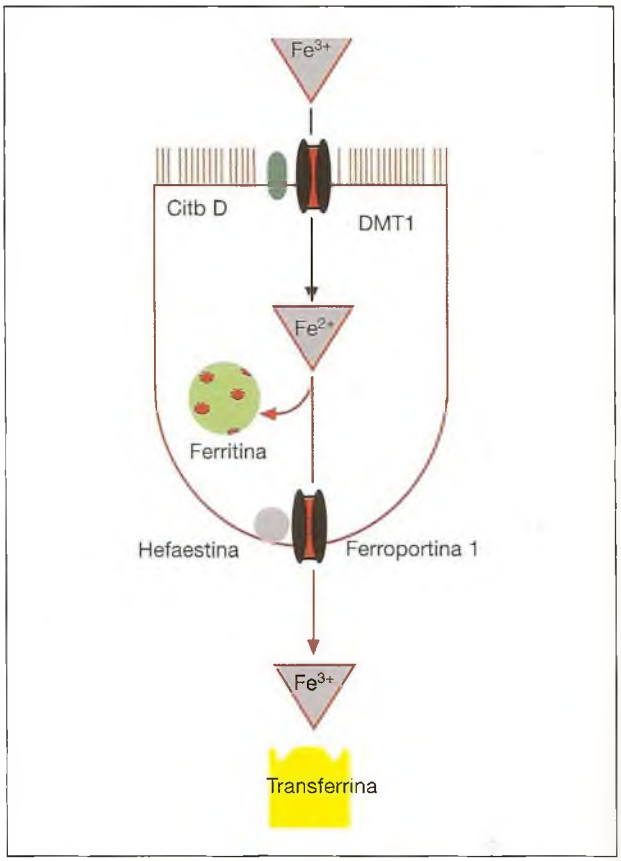


Figura 6.3. Mecanismo de regulación de la absorción del hierro por la célula intestinal. Tanto el paso de hierro por la membrana apical como su depósito en forma de ferritina dependen del estado de las reservas. Las proteínas que intervienen en el paso del hierro desde la luz al interior de la célula intestinal son la DMT1 y el citocromo bD (Citb D) y las que intervienen en el paso del hierro desde el enterocito al plasma son la ferroportina 1 y la hefaestina. Como la actividad de estas proteínas está regulada por las reservas de hierro, cuando hay ferropenia se favorece el paso directo del hierro hacia el plasma mientras que en caso de sobrecarga se favorece su depósito en la propia célula intestinal bajo forma de ferritina.

hierro. Debido a ello al IRP-1 se le conoce también como «factor regulador del hierro» o IRF (*Iron Regulation Factor*).

El conocimiento de este delicado sistema regulador ha sido favorecido por el hallazgo de una mutación en el IRE del RNAm de la L-ferritina causante del llamado síndrome de hiperferritinemia hereditaria asociada a cataratas (HHCS)[7,8] y en líneas generales se rige por el siguiente esquema. Cuando disminuye la concentración del hierro de los depósitos (ferropenia), el IPR-1, desprovisto de hierro, presenta gran afinidad por los IRE presentes en RNAm de la ferritina y δ-ALAS, bloqueando la traducción. De forma simultánea estabiliza el RNAm del RTf, DMT1, ferroportina y hefaestina, favoreciendo la traducción. Por el contrario, cuando la concentración del hierro de los depósitos es elevada (sobrecarga) se produce una saturación del IRP-1 por el hierro, con lo que adquiere actividad aconitasa (enzima que cataliza la conversión de citrato a isocitrato), y pierde afinidad por los IRE. Como consecuencia se desbloquea la traducción del RNAm para la ferritina y δ-ALAS, aumentando su síntesis y se degrada el RNAm de las proteínas RTf DMT1, ferroportina 1 y hefaestina disminuyendo su síntesis (fig. 6.5).

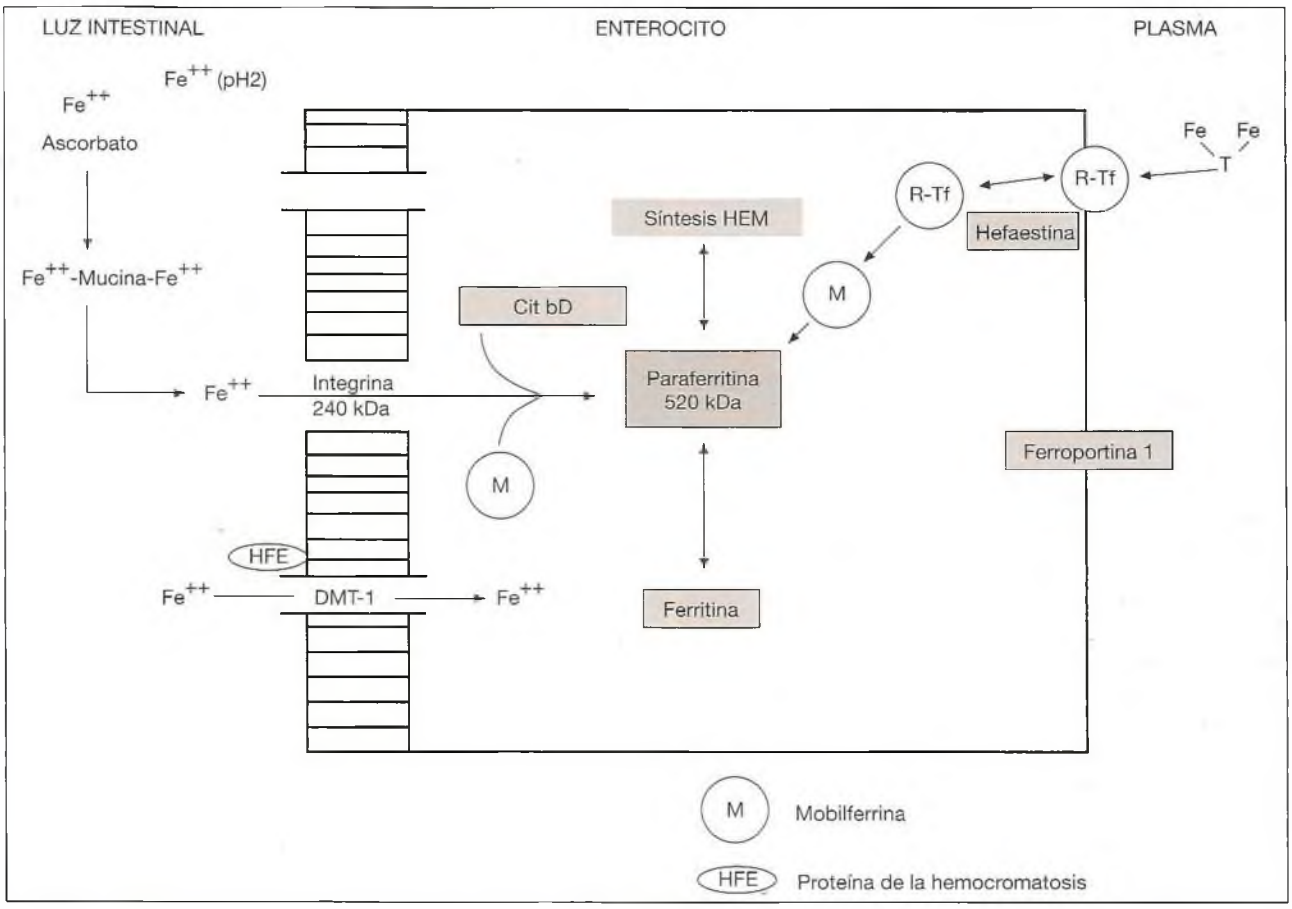


Figura 6.4. Mecanismo general de la absorción del hierro a nivel de la célula intestinal. El hierro en forma ferrosa (Fe++) es transportado por la DMT1 de la membrana apical, proceso en el que interviene la HFE. Una vez en el interior del enterocito, el hierro es procesado por un gran complejo proteico citoplasmático, llamado paraferritina, que incluye proteínas como β_3-integrina, mobilferrina, flavin monooxigenenasa y β_2-microglobulina. El Fe++ puede ser almacenado como ferritina o alcanzar la membrana basal, donde, previa oxidación por la hefaestina, es conducido por la ferroportina 1 al plasma para unirse a la transferrina (Tf). La membrana basolateral del enterocito expresa receptores para Tf, que permiten la entrada del Fe-Tf. De esta forma, el Fe «informa» a la célula sobre el estado férrico del organismo, induciendo la regulación negativa de su captación vía DMT1 e integrina-mobilferrina. R-TF: receptor de la transferrina.

Esta acción bidireccional permite al organismo responder siempre de la forma más apropiada a su contenido en hierro y evitar, en cualquier caso, la sobrecarga o la intoxicación, de consecuencias muy nocivas para diversos tejidos vitales[9,10].

Otra proteína que también interviene de alguna manera en la absorción del hierro es la HFE codificada por el gen HFE (proveniente de la contracción del término en inglés relacionado con el HLA-H o complejo mayor de histocompatibilidad o región del sistema HLA cercano al gen y FE como símbolo del hierro). Esta proteína se halla implicada en la hemocromatosis hereditaria HH, se une a la β2-microglobulina (β2MG) que se expresa en la superficie de las células parietales del intestino delgado (duodeno, principalmente) e interviene directamente el proceso de la absorción del hierro no hemínico[2,11]. Estudios experimentales avalan que la HFE presenta una afinidad por el RTf similar a la de la propia Tf, por lo que compite con ella en su unión al mismo[12,13]. Asimismo, los modelos murinos basados en la desactivación genética (*knock-out*) del HFE y β2-microglobulina producen cuadros de sobrecarga de Fe con aumento de la absorción intestinal similares a los de la HH. Ello hace suponer que la mutación C282Y, presente en la mayoría de casos de HH, al impedir la unión entre la proteína HFE y la β2MG, disminuiría su expresión en la membrana de la célula parietal y el hierro penetraría sin control hacia el interior del organismo. Otras posibilidades son que la proteína HFE actúe directamente sobre los sensores del hierro a nivel de las criptas de las vellosidades intestinales o sobre la concentración de DMT-1 (fig. 6.4). Todas las hipótesis referentes a la actividad de la HFE en la absorción del hierro se basan exclusivamente en estudios experimentales, y algunas de ellas no se corresponden con lo que sucede realmente en el organismo humano[14].

Finalmente, y como colofón a todos los hallazgos citados, muy recientemente se ha descubierto un pequeño péptido constituido por sólo 25 aminoácidos que podría ejercer un papel clave en la regulación de todos los procesos que intervienen en la homeostasis del hierro[15,16]. Este péptido, conocido con el nombre de hepcidina (acrónimo que proviene de los términos en inglés *hepatic bactericidal protein*), fue descubierto en la orina humana, posee actividad bactericida/fungicida y es sintetizado por el hígado como respuesta a estímulos inflamatorios, la hipoxia (anemia) y la concentración de hierro unido a la transferrina (fig. 6.6). Tan importante parece ser la función de la hepcidina que ya se la conoce como la «hormona reguladora del metabolismo del hierro». Diversos estu-

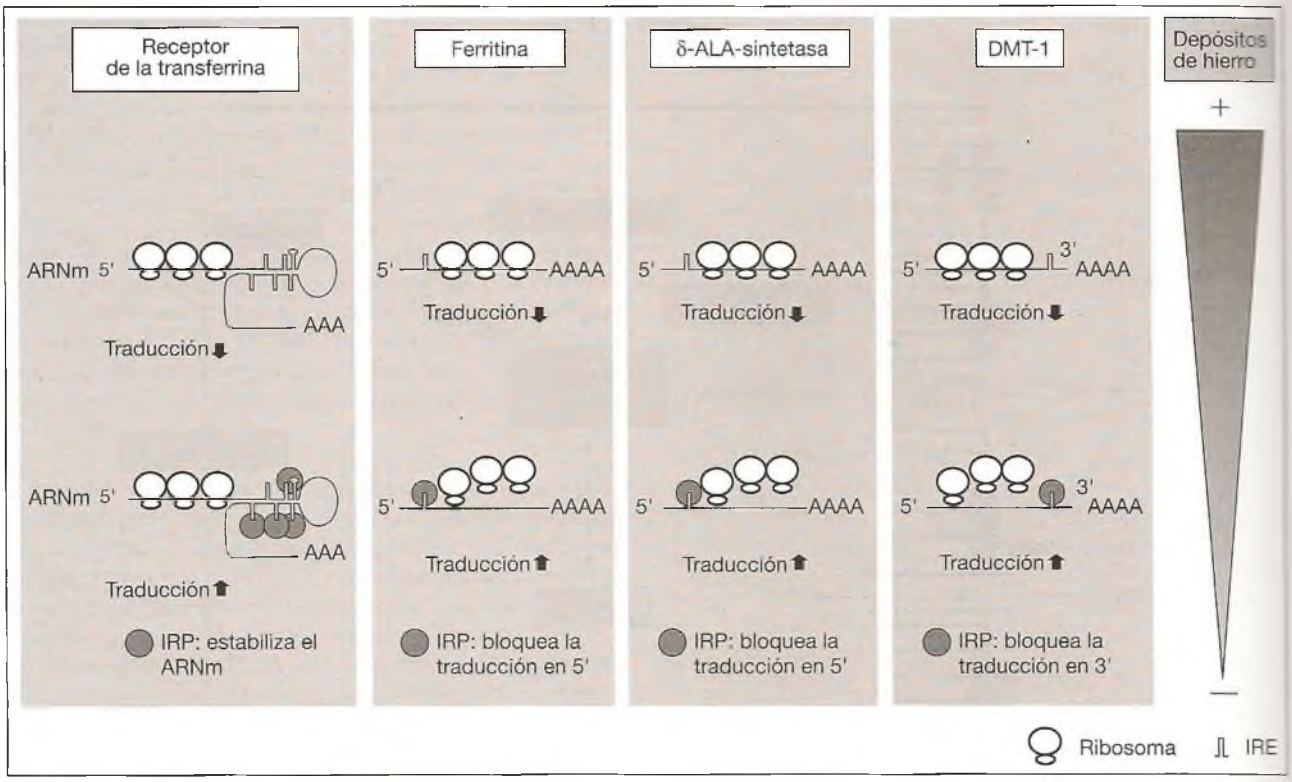


Figura 6.5. Regulación coordinada de la síntesis del receptor de la transferrina (R-Tf), ferritina y δ-ALA-sintetasa por las proteínas responsables de la homeostasis del hierro (IRE-BP).

dios realizados en ratones transgénicos demuestran que la hepcidina ejerce un efecto regulador negativo sobre la absorción intestinal y placentaria del hierro, y también sobre su liberación desde los macrófagos, placenta y otras células degradando la proteína transportadora ferroportina 1[17,18]. Por ello su función se ha relacionado con la regulación de los procesos de absorción y reutilización del hierro por el organismo[15-18]. Así, un exceso de hierro aumentaría la síntesis de hepcidina, lo que disminuiría tanto la absorción intestinal como la salida del hierro de los macrófagos. Por el contrario, la ferropenia disminuiría la síntesis de hepcidina, aumentando la absorción de hierro intestinal y su liberación desde los macrófagos para poder ser utilizado en la síntesis de hemoglobina. La hepcidina constituiría, en realidad, un factor plasmático exclusivo que de manera simultánea regularía tanto la absorción del hierro intestinal como su reutilización a partir de los depósitos. Por el mismo mecanismo, en los procesos inflamatorios crónicos donde se ha demostrado un importante aumento de la síntesis de hepcidina, este péptido no sólo sería el regulador fisiológico de la cinética del hierro, sino que contribuiría al mecanismo fisiopatológico de la llamada anemia asociada a procesos inflamatorios crónicos o anemia inflamatoria[18]. Además, su relación con la HH vendría dada por el hecho de que su expresión también viene regulada por el gen HFE y por el factor de transcripción C/EBPa (*enhancer binding protein*)[19].

Finalmente, también resulta interesante señalar la existencia de otras proteínas clave en el metabolismo del hierro, como, por ejemplo, la hemojuvelina (proteína que se corresponde al gen HFE2 responsable de la hemocromatosis juvenil), y otras que podrían contribuir a modular la expresión de hepcidina[20].

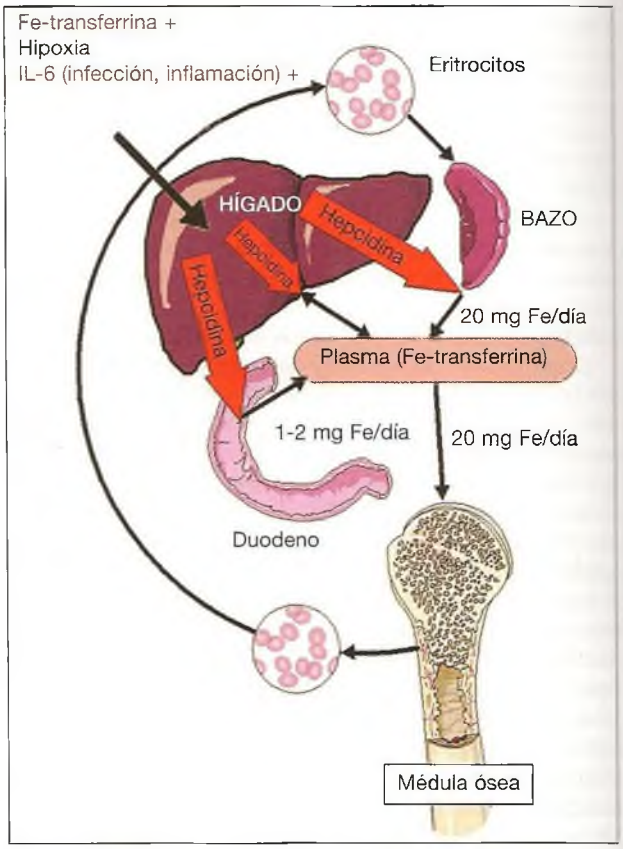


Figura 6.6. Efecto inhibidor de la hepcidina sobre la absorción del hierro (duodeno) y su liberación por el SMF (bazo).

Transporte plasmático

La mayor parte del hierro que penetra en la sangre después de la absorción se une a la transferrina (Tf), una betaglobulina plasmática de 79 kDa que posee dos fragmentos glucídicos con ácido siálico (glucoproteína) y que es codificada por un gen situado en el cromosoma 3, muy próximo al del receptor de la transferrina (RTf). La vida media de la Tf en la circulación es de 8 días, y su principal órgano productor es el hígado, aunque también puede ser sintetizada por células de glándula mamaria, testículo, sistema nervioso central, linfocitos y macrófagos. La síntesis de la Tf hepática parece estar regulada por la concentración de hierro intracelular, de forma que cuando ésta disminuye, la Tf plasmática aumenta. Por ello, en la anemia ferropénica, el descenso del hierro plasmático va acompañado siempre de un aumento de la transferrina y de su capacidad de saturación[1,2,21]. Cada molécula de transferrina es capaz de fijar dos átomos de hierro, pero sólo en forma oxidada (Fe^{+++}), por lo que antes de unirse la Tf, el hierro es oxidado por una ferroxidasa plasmática (ceruloplasmina). No todas las moléculas de Tf circulantes se hallan saturadas por el hierro, sino que existe una proporción variable de moléculas libres de hierro (apotransferrina), con una molécula de transferrina (monotransferrina) o con dos moléculas (ditransferrina). La proporción de cada una de estas tres formas de transferrina depende de la cantidad de hierro del organismo, de manera que en la anemia ferropénica predominan las formas apoferritínicas, mientras que en los estados de sobrecarga férrica predominan las diferritínicas (fig. 6.7). La concentración plasmática de transferrina (transferrinemia) oscila entre 250 y 450 mg/dL (23-57 mmol/L) y, en la práctica clínica, ésta suele venir referida a la cantidad de hierro que es capaz de fijar el plasma, o capacidad de saturación de la transferrina (CST). Dado que todo el hierro circulante (sideremia) se halla fijado a la Tf, y en un individuo normal la sideremia oscila entre 50 y 140 mg/dL (9 a 27 mmol/L), sólo el 30-35% de la Tf circulante se halla saturada por el hierro. El grado de saturación de la Tf por el hierro, o índice de saturación de la transferrina (IST), constituye un factor que regula la intensidad de la eritropoyesis, de forma que ésta disminuye drásticamente cuando es inferior al 16% (eritropoyesis ferropénica), y se desvía hacia el hígado cuando es superior al 90% (hemosiderosis hepática). Cabe destacar que, en la situación excepcional de un déficit congénito de transferrina (atransferrinemia), el hierro que se absorbe normalmente se deposita y acumula en tejidos parenquimatosos (hígado, páncreas, corazón), pero no llega a la médula ósea, por lo que, junto con una hemosiderosis, existe anemia microcítica e hipocroma[22]. Existe también una vía de transporte de hierro independiente de la Tf que es de escasa relevancia, pero que puede ser importante en algunos casos de sobrecarga férrica. El plasma normal contiene también receptor soluble de la transferrina (RsTf), cuya concentración, determinada mediante anticuerpos monoclonales, varía entre 2 y 5 mg/mL. El nivel de RsTf del plasma constituye un reflejo de la intensidad de la eritropoyesis y un indicador muy sensible del estado ferropénico, incluso en ausencia de anemia[23].

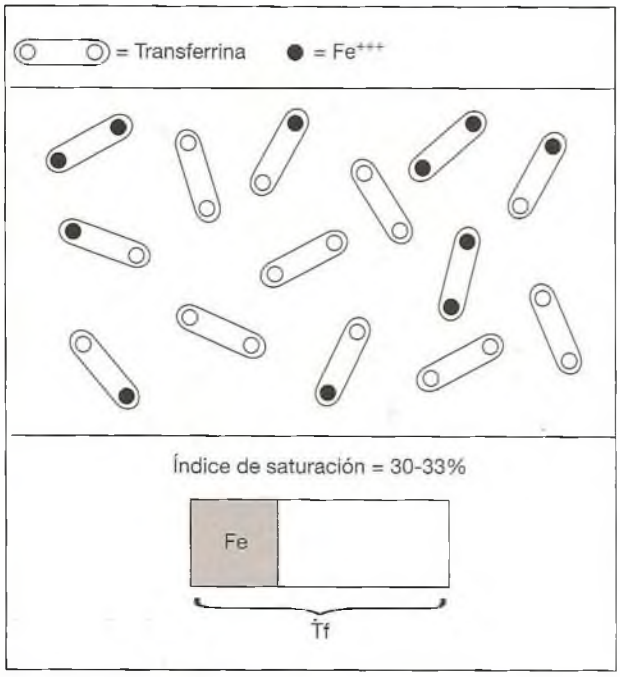


Figura 6.7. Unión del hierro a la transferrina (Tf) y mecanismo de transporte plasmático del hierro. Índice de saturación de la Tf (IST). Fe^{+++}: hierro férrico (oxidado).

Penetración intracelular

El hierro penetra en el interior del citoplasma celular previa unión de la Tf al receptor de la transferrina (RTf) presente, prácticamente, en todas las células del organismo[24]. Las células con mayor número de receptores de Tf son las que requieren un mayor consumo de hierro, como los eritroblastos y reticulocitos, o las que intervienen activamente en su mecanismo de reutilización como, por ejemplo, los hepatocitos.

El RTf es una glucoproteína integral compuesta por dos subunidades de peso molecular de 94 kDa cada una, unidas por un puente disulfuro. Cada subunidad puede fijar una única molécula de transferrina, es decir, dos moléculas de Tf por unidad de RTf. La síntesis del RTf se halla íntimamente ligada a la de ferritina por un mecanismo de regulación genética común (cromosoma 3) que resulta activado por la ferropenia e inhibido por el grupo hemo[23]. La afinidad del RTf por la Tf depende del grado de saturación de ésta, de forma que es mínima para la apotransferrina y máxima para la ditransferrina.

Recientemente, se ha demostrado la presencia de otro receptor, el receptor de la transferrina tipo 2 (TfR2), que posee gran homología con el anterior receptor. El TfR2 se encuentra sobre todo en el hígado y en los eritroblastos, y es capaz de unirse a la Tf, aunque con menor afinidad, y a diferencia del receptor clásico, no posee regiones IRE. Su función en el metabolismo férrico es poco conocida, aunque sus alteraciones pueden ser causa de hemocromatosis.

La penetración del hierro en el interior de las células (del eritroblasto, por ejemplo) o internalización se realiza en cuatro etapas, caracterizadas por un proceso de endocitosis reversible (fig. 6.8):

Primera etapa: formación del complejo transferrina saturada-receptor de transferrina (Tf-Fe-RTf) en la superficie de la célula.

Segunda etapa: internalización del complejo Tf-Fe-RTf, muy probablemente unido a la proteína HFE mediante endocitosis, con formación de una vesícula o siderosoma. La endocitosis de la Tf por los eritroblastos presenta una actividad inversamente relacionada con la síntesis del hemo, de

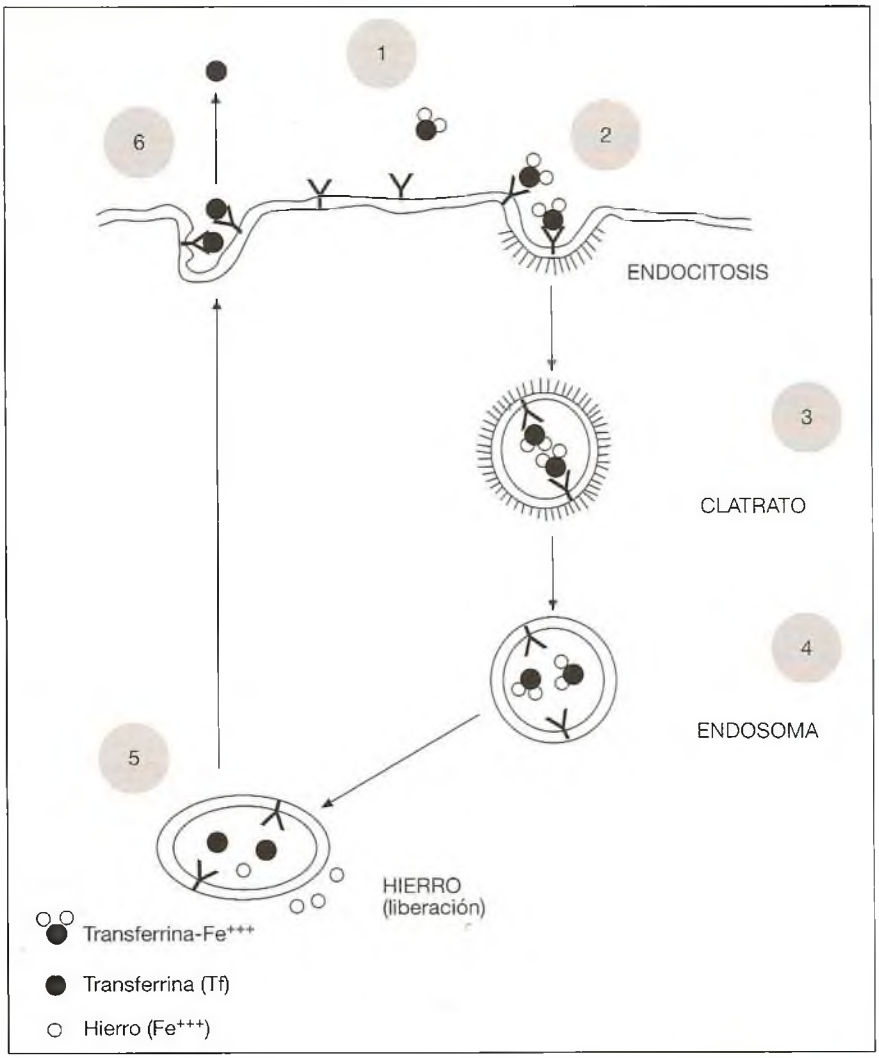


Figura 6.8. Internalización de la transferrina (Tf) después de su unión al receptor de la transferrina situado en la membrana celular del eritroblasto.

manera que cuando disminuye (ferropenia), aumenta la entrada de hierro en los eritroblastos, y viceversa, cuando aumenta, ésta disminuye.

Tercera etapa: liberación del hierro de la Tf por acidificación del siderosoma (pH: 5,3) y transporte del mismo hacia el citoplasma por acción de la proteína DMT1. El hierro liberado formará parte del compartimento lábil intracelular que se usará en los diferentes procesos metabólicos (formación de heme y grupos Fe-S en la mitocondria, almacenamiento en la ferritina, y otros).

Cuarta etapa: desplazamiento de la vesícula ferritínica (libre de hierro) hacia la superficie de la célula, y liberación de la apoferritina hacia el plasma por exocitosis, con reconstitución de los receptores de transferrina que pueden ser reutilizados.

Estudios de la médula ósea mediante microscopia electrónica de transmisión han demostrado que existe un mecanismo directo de entrada de hierro desde los macrófagos a los eritroblastos. Ello se realiza a través de una unidad funcional denominada «islote eritroblástico», constituida por un macrófago de eritroblastos a los que, y mediante un proceso de invaginación-endocitosis (rofeocitosis), se va transfiriendo el hierro desde el macrófago a los eritroblastos circundantes (fig. 6.9). Una vez en el interior del eritroblasto, el hierro en su mayor parte (80%) es utilizado para la síntesis de hemoglobina, y el resto (20%) se deposita en el citoplasma en forma de ferritina y hemosiderina, donde puede visualizarse mediante la reacción del azul de Prusia (tinción de Perls). Los eritroblastos que presentan hierro plasmático (hemosiderina) demostrable mediante la tinción de Perls se denominan sideroblastos, y su proporción normal oscila entre el 20 y el 60%. Según su contenido en gránulos de hemosiderina, existen varios tipos

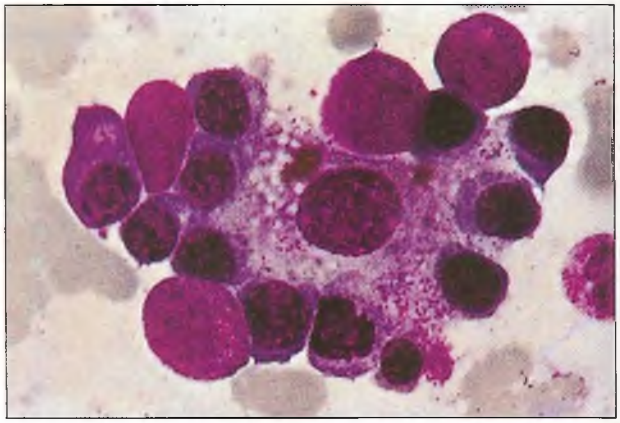


Figura 6.9. Islote eritroblástico. Médula ósea (tinción de MGG ×800).

de sideroblastos y aquellos en los que éste es tan elevado que ofrece una imagen de gránulos rodeando la práctica totalidad del núcleo se denominan «sideroblastos en anillo» (fig. 6.10). Los sideroblastos en anillo son característicos de la existencia de sideroacresia o hierro intramitocondrial (fig. 6.11).

Utilización del hierro

En el interior de la célula, el hierro es almacenado en forma de ferritina o bien es incorporado a las hemoproteínas (hemoglobina, mioglobina y citocromos) o a enzimas que poseen grupos Fe-S (aconitasa, entre ellas) u otros grupos (Fe-Ni), dando lugar al denominado ciclo mitocondrial del hierro.

En el *ciclo mitocondrial* del hierro hay dos vías importantes: la formación de heme, que es regulada por la enzima delta-aminolevulínico sintetasa (ALAS), por ello sus defectos originan depósitos de Fe en la mitocondria (anemia sideroblástica congénita), y de los grupos Fe-S, que es regulada por la frataxina (FRDA). Por ello, los defectos de esta enzima provocan acúmulo de hierro y un ataque de radicales libres contra las enzimas respiratorias que conforman el cuadro clínico de la ataxia de Friedrich. Recientemente, se han descrito varias proteínas mitocondriales que transportan hierro en la membrana mitocondrial (pertenecen al grupo de proteínas transportadoras ABC), y cuyo defecto puede condicionar enfermedades mixtas (anemia sideroblástica con ataxia por defectos de la proteína de transporte mitocondrial ABC7). Una característica de estas proteínas es su síntesis nuclear en forma de precursores citoplasmáticos (p-ALAS, p-FRDA) que han de madurar (proteólisis) para poder acceder a la mitocondria. Se han descrito varias alteraciones durante este proceso de maduración.

Reservas de hierro

La *reserva del hierro en el organismo* se realiza mediante la proteína de depósito ferritina (Ft), que es un multímero de 24 subunidades constituido por dos tipos de cadenas: ligeras, de 19,7 kDa (Ft L), y pesadas, de 21 kDa (Ft H). La ferritina es capaz de almacenar en su núcleo hasta 4.500 moléculas de Fe^{3+} en forma de Fe^{3+}-oxihidroxifosfato. Estas cadenas L y H son codificadas por genes situados en los cromosomas 19 y 11, respectivamente, y su diferente proporción y grado de glucosilación da lugar a dos isoferritinas fácilmente identificables por su distinto punto isoeléctrico. La función de estas isoformas de ferritina parece ser diferente, por cuanto la que presenta un predominio de cadenas L actúa preferentemente sobre las reservas, mientras que la que posee un predominio de cadenas H lo hace sobre la compartimentalización (*pool*) del hierro en el organismo[1,26]. El Fe^{2+} penetra por vía de los canales de la Ft, y debe oxidarse 3+ para almacenarse; la Ft H con actividad ferrioxidasa se encarga del proceso; mientras que la Ft L es la que empaqueta el hierro del núcleo molecular.

La vida media de una molécula de ferritina es, aproximadamente, de 60 horas, y cuando su número se halla en exceso es captada por los lisosomas, en cuyo interior se degrada la apoferritina, y el núcleo de hierro (hidroxifosfato) se transforma en hemosiderina, un compuesto insoluble y amorfo, con mayor contenido en hierro que la ferritina pero de recambio metabólico mucho más lento. A diferencia de la ferritina, la hemosiderina tiende a formar agregados que pueden visualizarse mediante la tinción de Perls.

Prácticamente, todas las células del organismo y líquidos biológicos contienen ferritina, especialmente las que tienen

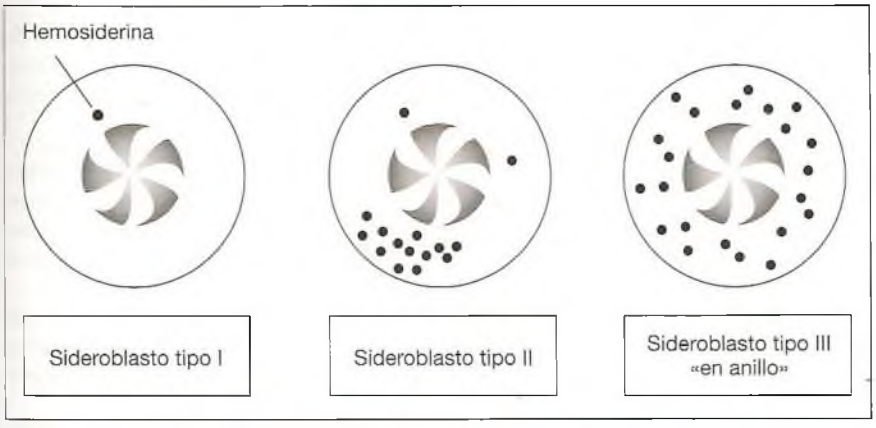


Figura 6.10. Esquema de las posibles formas de disposición del hierro en los sideroblastos.

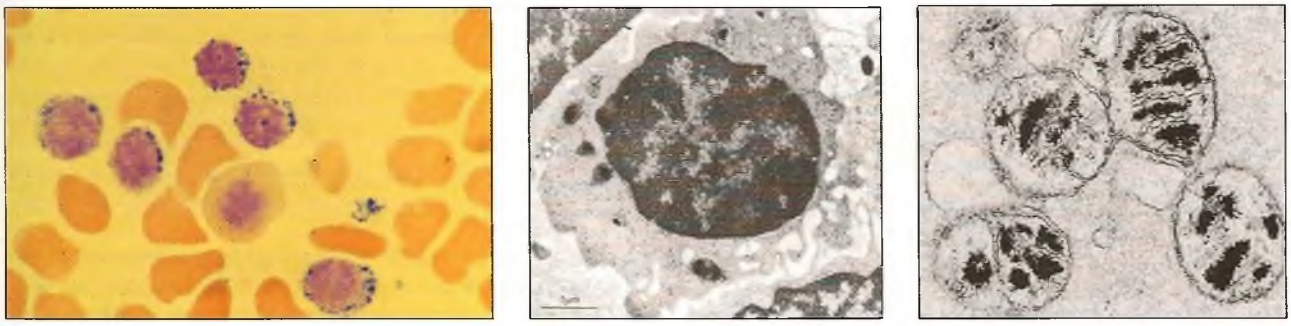


Figura 6.11. Sideroacresia.

funciones específicas relacionadas con la síntesis de hemoglobina (eritroblastos) o con el metabolismo del hierro y su reserva (macrófagos y hepatocitos). Los macrófagos y los hepatocitos son los encargados de almacenar hierro, y mientras los primeros obtienen el hierro a partir del reciclaje del hemo de donde es liberado después de la eritrofagocitosis (hemólisis fisiológica), los segundos lo obtienen directamente del plasma, principalmente a través de la vía Tf-RTf. A diferencia de los precursores eritropoyeticos, estas y otras células del organismo pueden captar hierro directamente del plasma por otras vías diferentes a la del complejo Tf-RTf. Ello explica que existan situaciones de falta de hierro para la síntesis de hemoglobina, acompañadas de un exceso del mismo en ciertos tejidos, como el hígado y el páncreas, donde puede crear estados de sobrecarga altamente perjudiciales (hemocromatosis). El hierro de reserva se distribuye en cantidades proporcionalmente similares entre tres grandes tipos de células:

1. Macrófagos de médula ósea y bazo.
2. Hígado (90% en hepatocitos y 10% en células de Kuppfer).
3. Músculo (miofibrillas y macrófagos).

El cociente ferritina/hemosiderina varía según la naturaleza del tejido y la cantidad de hierro acumulado[27]. Así, en las células parenquimatosas, como el hígado y el músculo, el hierro de reserva se halla habitualmente en forma de ferritina, y sólo en caso de sobrecarga se produce un aumento de la hemosiderina. La ferritina parenquimatosa (especialmente, la hepática) guarda relación directa con la capacidad de saturación de la transferrina (CST) y mantiene un intercambio bidireccional con el plasma. Así, existe una relación directa entre la ferritinemia y la ferritina celular, de forma que cada µg/L de ferritina plasmática corresponde, aproximadamente, a 8 a 10 mg de hierro celular. Ello hace que la ferritinemia, cuyo valor normal oscila entre 12 y 300 µg/L, sea utilizada en la práctica clínica para valorar el estado de los depósitos de hierro en la práctica clínica general[28]. A diferencia de las células parenquimatosas, en los macrófagos (especialmente de médula ósea, bazo y células de Kuppfer), el hierro de reserva se halla predominantemente bajo la forma de hemosiderina, y a diferencia de las células parenquimatosas, únicamente procede del catabolismo hemoglobínico, siendo progresivamente liberado hacia el plasma, donde se une a la transferrina.

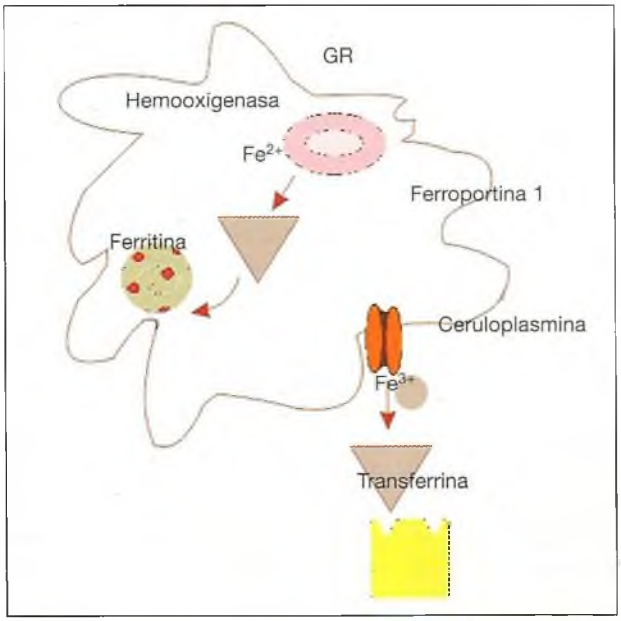


Figura 6.12. En los macrófagos los eritrocitos son descompuestos en sus constituyentes esenciales, y el hierro hemínico es liberado por la hemooxigenasa. Este hierro puede ser almacenado bajo forma de ferritina o liberado hacia el plasma por acción de la ferroportina 1, previa oxidación por la ceruloplasmina. Su transporte plasmático requiere la unión previa a la transferrina.

El hierro acumulado en los macrófagos y hepatocitos es liberado a partir de la Ft, y su paso a la sangre mediado por la proteína Ireg1. El mecanismo es muy similar al de la membrana basal del enterocito y el hierro, que se halla en forma ferrosa (Fe^{2+}), ha de oxidarse (Fe^{3+}) para unirse a la transferrina, gracias a la acción de la ceruloplasmina (fig. 6.12). Debido a ello, cuando existe un déficit de ceruloplasmina (aceruloplasminemia) o un defecto de la ferroportina 1, el hierro no puede oxidarse y queda retenido en el interior de los depósitos dando lugar a un estado de sobrecarga férrica con imposibilidad de ser utilizado para la síntesis de hemoglobina. El mecanismo de liberación de Fe desde la Ft no se conoce muy bien, aunque es sabido que ésta experimenta un proceso de degradación permanente con liberación de Fe que de ser requerido pasaría al plasma y en caso contrario volvería a unirse a nuevas moléculas de Ft recién sintetizadas. Al igual que en el proceso de absorción intestinal, en el de liberación del hierro desde los macrófagos hacia el plasma existiría una importante acción reguladora negativa por parte de la hepcidina. Dado que en los procesos inflamatorios crónicos existe un aumento de hepcidina, esta doble acción reguladora explicaría tanto la disminución de la entrada de hierro en el organismo como su retención en el interior de los macrófagos y con ello el mecanismo fisiopatológico de la anemia inflamatoria.

En resumen, puede decirse que el complejo sistema de compartimentalización del hierro en el organismo está finamente regulado por cuatro factores: dietético, hierro de reserva, eritropoyético e hipoxia.

Factor dietetico: la cantidad de *hierro presente en la dieta* constituye un importante factor regulador, ya que se ha demostrado que después de varios días de una ingesta excesivamente rica en hierro se produce un bloqueo de la mucosa intestinal a la absorción.

Factor hierro de reserva: es un hecho bien demostrado que la cantidad de *hierro de los depósitos* constituye un sensor, ya que en caso de ferropenia puede duplicarse o triplicarse la absorción intestinal de hierro.

Factor eritropoyético: las *necesidades de la eritropoyesis* regulan la absorción de hierro, independientemente del hierro de las reservas. Este mecanismo parece ser el responsable del aumento de absorción de hierro en caso de anemia debida a eritropoyesis ineficaz (síndromes talasémicos, anemias diseritropoyéticas congénitas y anemias sideroblásticas).

Factor hipoxia: la hipoxia por ella misma puede inducir también la absorción de hierro.

Dado que la médula ósea, el hígado y el intestino no son tejidos adyacentes, es posible que existan reguladores solubles circulantes por el plasma, capaces de actuar directamente en la absorción de hierro. Entre ellos, se ha conside-

rado a la hepcidina como el mejor candidato para realizar esta función.

EVALUACIÓN DEL METABOLISMO DEL HIERRO

La ferrocinética constituye un procedimiento para analizar las características del intercambio de hierro entre los diferentes compartimentos y, por tanto, realizar una evaluación global del metabolismo del hierro. En general se emplea un trazador radiactivo (transferrina marcada con ^{59}Fe) que, una vez inyectado en el organismo, permite seguir su desplazamiento desde el plasma hacia la médula ósea, y de ésta hacia el compartimento hemoglobínico. Dado que la cinética del hierro guarda una relación directa con la síntesis de hemoglobina, su estudio permite evaluar la efectividad o inefectividad de la eritropoyesis.

Después de algunas horas y durante algunos días de administrar la transferrina marcada, se extraen muestras de sangre al objeto de determinar la radiactividad del plasma y eritrocitos, la sideremia, el hematocrito y el volumen plasmático. Con estos datos pueden determinarse varios parámetros eritrocinéticos, entre los que destacan: 1) el aclaramiento plasmático de hierro (APH) en minutos; 2) la incorporación del hierro a los eritrocitos (IHE) en mg de Fe/día; 3) el tránsito medular de hierro (TMH) en días, y 4) el grado de utilización del hierro por los eritrocitos (UHE) en porcentaje (%).

El aclaramiento plasmático del hierro inyectado es inicialmente exponencial y, a partir del mismo, puede calcularse el tiempo en que la radiactividad se reduce a la mitad (tiempo medio de aclaramiento), cuyo valor es, aproximadamente, de 90 minutos. El T1/2 de aclaramiento se acorta en la aplasia e hipoplasia medular, y aumenta en caso de estímulo eritropoyético (hemólisis o eritropoyesis ineficaz). La incorporación del hierro a los eritrocitos se inicia después de varios días de su inyección, y alcanza un máximo entre el día 10 y 14. El tiempo necesario para la incorporación del hierro a los eritrocitos aumenta en todas las situaciones que disminuyen la eficacia de la eritropoyesis (hipoplasia, aplasia, eritropoyesis ineficaz) o que suponen una rápida destrucción de los mismos (hemólisis), y disminuye de manera característica en los estados ferropénicos (fig. 6.13).

El tránsito medular de hierro (TMH) es una medida indirecta de la actividad eritropoyetínica, y el grado de utilización del hierro por los eritrocitos (UHE) puede calcularse mediante las fórmulas indicadas en la tabla 6.3.

ANEMIA FERROPÉNICA

Introducción

La anemia ferropénica obedece a una disminución de la concentración de hierro en el organismo, y presenta un desarrollo progresivo en el que intervienen varias etapas caracterizadas por una disminución gradual de hierro en los depósitos y del tamaño eritrocitario (fig. 6.14):

1.ª- **Ferropenia prelatente.** Se caracteriza por la desaparición del hierro de reserva (hierro medular), con porcentaje de sideroblastos muy disminuido (inferior al 5%; referencia: 30-40%). En esta etapa la concentración de hierro circulante (sideremia) puede ser normal y sólo puede hallarse disminuida la ferritina plasmática como reflejo de la ausencia de hierro de reserva.

2.ª- **Ferropenia latente.** Caracterizada por el descenso del índice de saturación de la transferrina (IST), que suele ser inferior al 12% (referencia: 30-35%). En esta etapa la sideremia es variable aunque generalmente disminuida al igual que la ferritina plasmática. Otros datos de valor son el aumento de la capacidad de saturación de la transferrina (CST) y la apreciación, mediante algunos sistemas electrónicos de recuento hematológico, de un moderado aumento del porcentaje de microcitos con VCM inferior a 60 fL.

3.ª- **Eritropoyesis ferropénica.** Se caracteriza por un descenso de la concentración de hemoglobina, microcitosis e hipocromía (anemia microcítica-hipocroma). En esta etapa suele observarse una disminución de todas las magnitudes sanguíneas relacionadas con el metabolismo del hierro (sideremia, ferritina e IST).

Prevalencia

El déficit de hierro es el trastorno carencial más frecuente en todas las poblaciones del planeta, y afecta no sólo a las áreas con desnutrición o carencia importante de alimentos sino también a las llamadas regiones industrializadas. Debido a ello, la anemia por carencia de hierro o ferropénica es la causa más frecuente de consulta clínica, en general. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha contribuido en gran manera al estudio de la prevalencia mundial de la anemia ferropénica al delimitar el concepto mismo de «anemia» en función de unos límites bien definidos de concentración de hemoglobina: 140 g/L para el varón y 120 g/L para la mujer no embarazada[29]. Es probable que estos límites sean algo elevados, lo que podría explicar cierta sobrevaloración de la prevalencia mundial de anemia ferropénica. Así, diversos estudios demuestran que aproximadamente el 30% de la población mundial (constituida por unos 6.000 millones de personas) padece anemia que, en la mitad de los casos, es ferropénica[30]. De ello se deduce que la ferropenia es la causa más frecuente de anemia en, prácticamente, todas las poblaciones del mundo y no sólo en las pertenecientes a países en vías de desarrollo sino también en otras tan avanzadas como Estados Unidos[31]. Con todo, el análisis de las llamadas poblaciones de alto riesgo (niños y mujeres en edad fértil) ha demostrado que la prevalencia de la ferropenia se sitúa alrededor del 50% en países subdesarrollados y del 10% en países con programas de prevención bien establecidos. Así, según los datos del National Health and Nutrition Examination Surveys (NHANES), la prevalencia de ferropenia en EE.UU. es, aproximadamente, del 5% en varones y del 12% en mujeres no embarazadas. La anemia ferropénica, siguiendo los criterios de la OMS, es de aproximadamente el 1,5% en varones y el 4-6% en mujeres no embarazadas[32,33]. En la población española, la prevalencia de ferropenia es de aproximadamente el 2% en varones y el 5-7% en niños y mujeres no embarazadas, mientras que la de anemia ferropénica es inferior al 1,6% en ambos grupos[34]. Debe señalarse que, debido a factores económicos, el déficit de hierro suele observarse en grupos enteros de familias.

Se desconocen las razones por las que el ser humano es, entre todos los seres vivientes, el más propenso al estado ferropénico, aunque una de ellas es, probablemente, el carácter

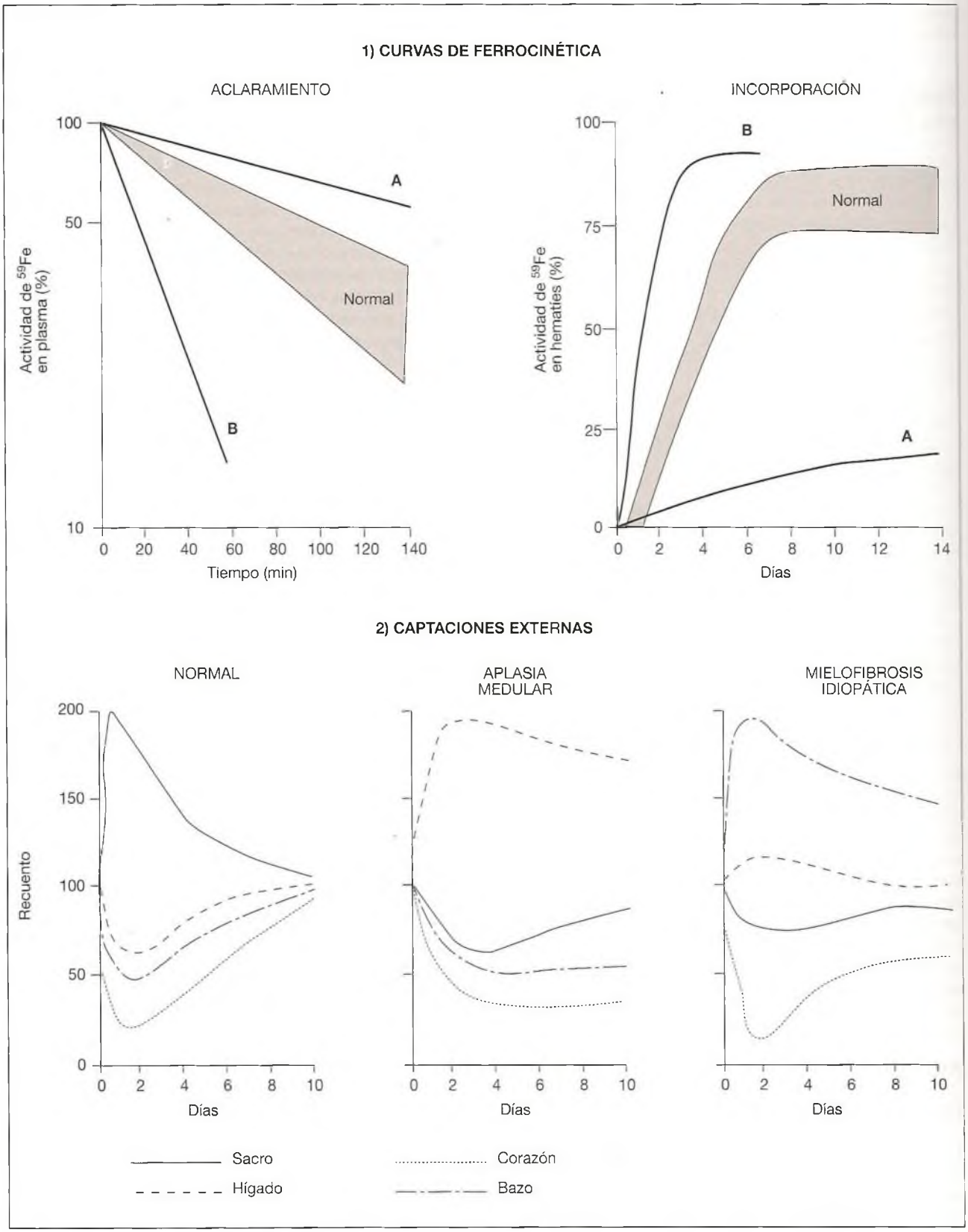


Figura 6.13. Estudios de ferrocinética.
1, curvas obtenidas mediante hierro radiactivo (^{59}Fe).
A, insuficiencia medular: disminución del aclaramiento e incorporación.
B, incremento de la actividad eritropoyética: aumento del aclaramiento y de la incorporación.
2, captaciones externas del ^{59}Fe. En condiciones normales se observa una gran captacion a nivel del sacro, en la aplasia medular a nivel del hígado, y en la hematopoyesis extramedular (metaplasia mieloide) a nivel del bazo.

TABLA 6.3

Mediciones útiles en el estudio de la ferrocinética

Magnitud	Cálculo	Valores de referencia
Aclaramiento plasmático	Gráfica (pendiente semilogarítmica)	86 minutos
Incorporación	$\frac{\text{Sideremia} \times 1.000 - \text{Hto}}{\text{T1/2} \times 100}$	26 ng/día
Utilización	$\frac{\text{cpm 1mL sangre (día 14)} \times 100}{\text{cpm* 1 mL sangre (día 0)}}$	80%
Tránsito medular	Gráfica (tiempo en que 100 – UEH = 50%)	3,5 días

*cpm: cuentas por minuto.

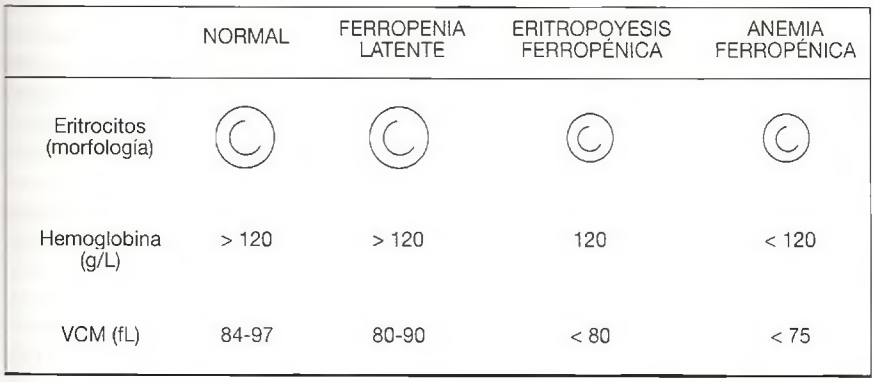


Figura 6.14. Etapas del desarrollo de una anemia ferropénica. La disminución del VCM constituye el primer signo hematológico de la ferropenia, y aparece mucho antes que la anemia.

«cerrado» de su metabolismo por el cual, en condiciones normales, sus pérdidas diarias, aunque mínimas (1-2 mg/día, aproximadamente), son únicamente compensadas por una ingesta equivalente con la dieta. De acuerdo con ello, prácticamente todo el hierro necesario para la síntesis de hemoglobina es reutilizado a partir de las reservas. En esta situación, un pequeño incremento, pero reiterado, de las pérdidas de hierro, o un aumento del consumo, favorecen la aparición de una ferropenia. Ejemplo de ello son las mujeres jóvenes con menstruaciones abundantes o embarazadas, los recién nacidos y los adolescentes. Cabe destacar que la menstruación constituye, de hecho, la causa más frecuente de anemia ferropénica en nuestra población, independientemente de la dieta. Ello es así por cuanto la cantidad de sangre que mensualmente se pierde por la menstruación es de unos 40 mL (equivalentes a 16 mg de hierro). No obstante, muchas mujeres sanas y que dicen tener una «menstruación normal» pueden llegar a perder más de 495 mL de sangre al mes (200 mg de hierro), es decir, una media de 7 mg de hierro al día, por lo que no resulta extraño la elevada frecuencia de anemia ferropénica que se observa en nuestro medio. Otra causa que ha favorecido la natural propensión del ser humano al estado ferropénico es la dieta. Así, a lo largo de la civilización, el ser humano ha pasado de una alimentación esencialmente carnívora (cazador primitivo) a una alimentación de tipo mixto en la que el cultivo de cereales y otros vegetales constituyen un componente importante de la dieta (tabla 6.4). Este cambio ha tenido una gran repercusión en el metabolismo del hierro, ya que mientras el intestino absorbe fácilmente el hierro hemínico procedente de la carne, le resulta mucho más difícil absorberlo a partir de mezclas de vegetales y compuestos diversos, en los que existen abundantes compuestos que inhiben la absorción. Por ello, la mayor parte del hierro ingerido se elimina por las heces, y las poblaciones más pobres, con menor ingesta de carne, también son las más propensas a padecer anemia ferropénica.

TABLA 6.4

Principales fuentes de hierro en la dieta

Compuesto	mg de Fe (1.000 kcal)
1. Legumbres	10
2. Carne y derivados	9
3. Frutas	7
4. Cereales	6
5. Otros varios	5
6. Leche y derivados	1
7. Aceites y grasas	0
Dieta normal (media)	6

Causas de la anemia ferropénica

El déficit de hierro obedece siempre a un balance negativo entre la disminución de la ingesta y el aumento de las necesidades o de las pérdidas (tabla 6.5).

Fisiológicas

Las necesidades de hierro del organismo humano varían con la edad y el sexo (tabla 6.2). Las causas fisiológicas de anemia ferropénica obedecen siempre a un aumento de las

TABLA 6.5

Causas de anemia ferropénica

1. AUMENTO DE LAS NECESIDADES
- Crecimiento corporal (infancia y adolescencia)
- Menstruación
- Embarazo (a partir del 3.er mes)
- Lactancia

2. DIETA INADECUADA

3. MALABSORCIÓN
- Aclorhidria
- Gastrectomía
- Enfermedad celíaca
- Pica

4. PÉRDIDAS POR HEMORRAGIA

a. Aparato digestivo
- Hernia de hiato
- Varices esofágicas
- Gastritis hemorrágica (ingesta de salicilatos)
- Úlcera gastroduodenal
- Hipergastrinemia
- Hipertrofia de la mucosa gástrica
- Páncreas aberrante
- Poliposis gastrointestinal
- Divertículo de Meckel
- Enteritis regional
- Colitis ulcerosa
- Oclusión vascular
- Telangiectasias (enfermedad de Rendu-Osler)
- Angiodisplasias
- Hemangiomas
- Hemorroides
- Parasitosis (helmintiasis, amebiasis, esquistosomiasis)
- Carcinomas y neoplasias gastrointestinales

b. Aparato respiratorio
- Carcinoma broncopulmonar
- Epistaxis
- Hemosiderosis pulmonar idiopática (síndrome de Goodpasture)
- Infecciones
- Telangiectasias (enfermedad de Rendu-Osler)

c. Aparato genitourinario
- Adenomiomas uterinos
- Carcinomas
- Hipermenorrea
- Hematuria
  - Carcinoma renal
  - Síndrome de Goodpasture
  - Enfermedad inflamatoria
- Hemoglobinuria
  - Hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN)
  - Hemoglobinuria paroxística «a frigore»
  - Hemólisis mecánica

d. Flebotomías repetidas
- Donantes de sangre
- Síndrome de Lasthenie de Ferjal
- Terapéuticas (policitemia vera)

necesidades de hierro debido a un mayor consumo (crecimiento corporal, lactancia y embarazo) o a un aumento de las pérdidas (menstruación). En ocasiones, a estos factores fisiológicos puede añadirse una alimentación inadecuada (pobre en carne y vitaminas).

Las necesidades fisiológicas de hierro, aunque constantes durante todo el período de crecimiento, son especialmente intensas en el segundo semestre de vida intrauterina y a lo largo de toda la infancia y adolescencia. Un aporte insuficiente de hierro durante estas etapas de la vida puede facilitar la aparición de un estado ferropénico. El intenso crecimiento fetal durante los últimos 3 meses del embarazo motiva que sea éste el período más propicio para el desarrollo de ferropenia, por lo que siempre es aconsejable prevenirlo administrando un suplemento de hierro a la dieta habitual de la embarazada (tabla 6.2). En el recién nacido, las reservas de hierro recibidas de la madre se agotan hacia el sexto mes de vida extrauterina, por lo que una lactancia inadecuada también puede provocar la aparición de anemia ferropénica.

La menstruación es la causa más frecuente de anemia ferropénica en las mujeres jóvenes y premenopáusicas, aunque el embarazo y la lactancia también pueden favorecer su desarrollo. El embarazo, sobre todo si es múltiple, comporta siempre un requerimiento adicional de hierro debido al paso del mismo desde la madre al feto a través de la placenta.

Patológicas

Entre las causas patológicas de ferropenia destacan la hemorragia digestiva, la malalabsorción y la hemólisis.

Hemorragia digestiva

La causa más frecuente de ferropenia es la pérdida repetida de pequeños volúmenes de sangre por vía digestiva (3 a 4 mL/día, correspondientes a 1,5-2 mg de hierro). Por ello, una anemia ferropénica en adultos (varón o mujer menopáusica) debe hacer sospechar siempre una hemorragia crónica secundaria a lesiones del tubo digestivo. Estas lesiones pueden tener un carácter benigno o maligno. Las primeras suelen situarse en la parte superior del mismo y, entre ellas, destaca la úlcera péptica, gástrica o duodenal y la ingesta crónica de antiinflamatorios no esteroideos (AINE). La ingesta durante 7 días seguidos de 1 g de ácido acetilsalicílico (AAS) puede ocasionar una gastritis con pérdida de 1-5 mL/día de sangre. Otros medicamentos con potencial acción hemorrágica son los anticoagulantes orales, la cortisona y el ácido etacrínico. Las varices esofágicas secundarias a cirrosis hepática, hernia de hiato gigante con intensa esofagitis de reflujo, las diverticulosis (con diverticulitis) y hemorroides o la parasitosis intestinal (anquilostomiasis y esquistosomiasis) son otras causas potenciales de anemia ferropénica. La hernia de hiato en su forma gigante o paraesofágica puede producir pérdidas sanguíneas de unos 15 mL/día, pero junto con las hemorroides, resulta siempre difícil de valorar como causa de anemia ferropénica, ya que los pacientes les atribuyen escasa importancia y su conocimiento casi siempre es el resultado de una anamnesis intencionada. Finalmente, las angiodisplasias, especialmente ciertas formas localizadas de enfermedad de Rendu-Osler, pueden ser causas de sangrado crónico por vía digestiva, difíciles de localizar.

Las *lesiones malignas* capaces de producir sangrado crónico se sitúan con mayor frecuencia en las regiones bajas del tubo digestivo, y entre ellas destacan el carcinoma de colon, las neoplasias del intestino delgado y, más rara vez, el carcinoma gástrico[33,35]. En las mujeres menopáusicas, pueden obedecer a metrorragias secundarias a fibromatosis uterina y a neoplasias ginecológicas de diversa índole.

Fuera del aparato digestivo, otras causas menos frecuentes de hemorragia son las vasculitis, que pueden acompañar a

enfermedades diversas como la telangiectasia hemorrágica congénita de Rendu-Osler, la hemosiderosis pulmonar (hemorragias multifocales de los capilares alveolares) idiopática o autoinmune (síndrome de Goodpasture), y otras enfermedades del sistema inmunitario como la glomerulonefritis, la vasculitis sistémica y el lupus eritematoso sistémico (LES). La hemosiderosis pulmonar idiopática, que es una causa excepcional de ferropenia, cursa con hemoptisis recidivante y eliminación de hemosiderófagos, y el síndrome de Goodpasture cursa con una nefropatía grave. Una causa excepcional de vasculitis adquirida de origen carencial es el escorbuto. Con carácter excepcional, pueden ser causa de anemia ferropénica el sangrado repetido y voluntario de donantes de sangre o la inducción intencionada de lesiones sangrantes con fines de simulación. Tal sucede en mujeres jóvenes con neurosis obsesiva (síndrome de Lasthenie de Ferjal) o en personas de edad variable con trastornos de la personalidad (fabulaciones, fantasías, etc.) y signos clínicos de enfermedad (síndrome de Münchausen). En ambos casos, existe una autolesión psicótica, pero en el síndrome de Münchausen los pacientes se caracterizan por una intensa anemia ferropénica que «no responde al tratamiento» y que, en ocasiones, puede asociarse con trastornos de la coagulación por ingesta de anticoagulantes (veneno de rata) o AAS. En general, este síndrome afecta preferentemente a personas relacionadas con el ambiente sanitario (enfermeras, celadores, etc.) que casi siempre muestran un trastorno de la personalidad[36].

Malabsorción

Puede ser una causa de ferropenia en personas jóvenes que, debido a su desconocimiento, suele pasar desapercibida. En general, obedece a la coexistencia de una enfermedad celíaca que dificulta la absorción de hierro y de otros factores madurativos (fólico y cobalamina), dando origen a un estado carencial generalizado con intensa anemia de carácter crónico. Dado que la enfermedad celíaca no es excepcional en nuestro medio, siempre que se observe persistencia de ferropenia en una persona joven (varón, principalmente) con pruebas de sangrado digestivo repetidamente negativas y respuesta variable a la administración oral de hierro, debe pensarse en una enfermedad celíaca. Aunque el diagnóstico definitivo requiere la práctica de una biopsia de la mucosa intestinal, la enfermedad celíaca, celiaquía o esprue no tropical es una enfermedad inflamatoria del intestino delgado producida por la ingestión de trigo en individuos predispuestos (genéticamente). La enfermedad, que obedece a una intolerancia al gluten, puede aparecer hacia los dos años de edad o, en los adultos, entre los 30 y 40 años. En la gran mayoría de casos suele pasar desapercibida, hasta que se manifiestan sus complicaciones: diarrea crónica, pérdida de peso y anemia. A veces se aprecia dolor abdominal recurrente y asociado a flatulencia, distensión abdominal y movimientos intestinales anormales. La anemia es multifactorial, y junto con el déficit de hierro existe también déficit de ácido fólico y/o de vitamina B_{12}. Ocasionalmente, puede existir un cuadro de artritis con dolor, rigidez y cansancio, con síntomas neurológicos como sensación de quemazón y picor en la piel de las extremidades, contracciones musculares, irritabilidad y alteraciones de la memoria, muchas veces debidas a la misma ferropenia. El diagnóstico se realiza mediante determinación de unos anticuerpos en la sangre, aunque la confirmación requiere la práctica de una biopsia duodenal o del yeyuno. Los anticuerpos que se investigan en esta enfermedad son de dos tipos: antigliadina (IgG e IgA) y, sobre todo, antiendomisio (IgA), que se detectan en el 96-97% de casos.

Otras formas menos frecuentes de malabsorción del hierro pueden observarse en la aquilia gástrica o en la resección quirúrgica del estómago. Finalmente, otra posibilidad que se debe tener en cuenta, especialmente en niños y mujeres jóvenes, es la ingesta obsesiva de sustancias no comestibles (pica), como tierra o yeso (geofagia), almidón de colada (amilofagia) o hielo (pagofagia). Debe señalarse que la pica suele ser, en realidad, una manifestación clínica de la anemia ferropénica, y desaparece al curar la anemia[37].

Hemólisis

La hemólisis, en sí misma, es una causa excepcional de ferropenia, excepto cuando va acompañada de pequeñas pérdidas de hemoglobina por la orina. Tal sucede en la hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) y en la anemia hemolítica mecánica o microangiopática, en la que existen pequeñas pérdidas, pero constantes, de hierro por la orina en forma de hemosiderina (hemosiderinuria). La hemosiderinuria (presencia de hemosiderina en las células de descamación tubular) se pone de manifiesto mediante tinción del sedimento urinario con la coloración de Perls (fig. 6.15), y obedece a una hemólisis crónica de carácter intravascular. Una forma especial de hemólisis mecánica es la del corredor ocasional (*footing* o *jogging*) o del profesional (atletas de competición), debida a la pérdida de sangre por rotura de los hematíes en los capilares de la planta de los pies (anemia del atleta o del corredor de fondo).

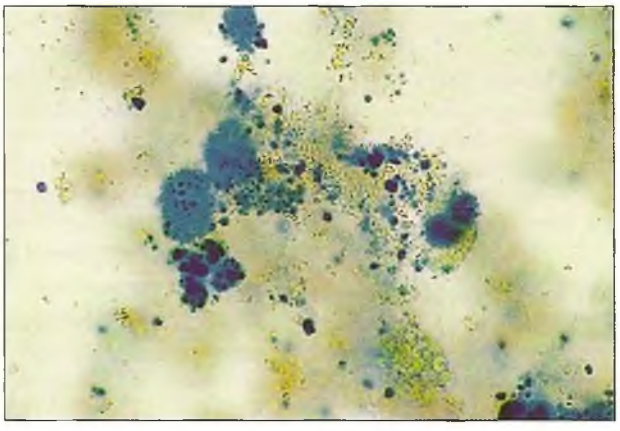


Figura 6.15. Hemosiderinuria. Tinción del sedimento urinario mediante coloración de Perls (azul de Prusia). Paciente con hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN).

Manifestaciones clínicas

Debido a que la ferropenia es, en general, una más de las manifestaciones del trastorno que la origina, es muy posible que el síndrome anémico quede enmascarado por la enfermedad de base. Al contrario, cuando el síndrome anémico es de instauración lenta y la enfermedad de base tiene escasa expresividad clínica, ésta puede pasar desapercibida si sólo se presta atención a la anemia. Ejemplo de ello es la anemia ferropénica que acompaña a ciertos trastornos clínicamente poco expresivos, como una microhemorragia digestiva crónica, la aquilia gástrica o la pérdida crónica de hierro por la orina (hemosiderinuria). Por ello, el diagnóstico

de una anemia ferropénica requiere, junto con la demostración de la depleción de hierro, una valoración minuciosa de los datos aportados por la clínica (anamnesis y exploración física) del paciente (tabla 6.6).

TABLA 6.6

Datos clínicos para la orientación diagnóstica de la anemia ferropénica

1. ANAMNESIS

Mujeres jóvenes
- Características de la menstruación (presencia de menorragias o metrorragias)
- Embarazo (características y frecuencia)
- Características de la dieta
- Hemorragias digestivas (ingesta crónica de ácido acetilsalicílico, hemopatías, hematuria, cirugía gastrointestinal)

Varones y mujeres posmenopáusicas
- Hemorragias digestivas (sintomatología digestiva, hemorroides, melenas)
- Epistaxis, hematuria, hemoptisis
- Antecedentes de cirugía gastrointestinal
- Características de la dieta

Niños
- Alimentación insuficiente
- Prematuridad, anemia ferropénica en la madre
- Alteraciones gastrointestinales
- Hemorragias
- Infecciones

2. EXAMEN FÍSICO
- Abdomen (tumoraciones, dolor, visceromegalias)
- Examen rectal y proctoscopia
- Examen pélvico
- Presencia de telangiectasias en piel y mucosas

Características de la anemia

La anemia que aparece como consecuencia de una eritropoyesis ferropénica es, en general, de instauración lenta y progresiva, y presenta una tolerancia clínica relativamente buena, especialmente en individuos jóvenes. El descenso de hemoglobina que suele ser motivo de consulta oscila entre 70 y 80 g/L, aunque puede darse el caso de pacientes con 40 g/L sin apenas expresividad clínica. Por ello, no debe olvidarse que, muchas veces, la anemia es un hallazgo casual con motivo de un chequeo o de una vista médica por otro motivo. En mujeres jóvenes, este tipo de anemia es muy frecuente, y aunque relativamente intensa, es muy bien tolerada, hasta el punto de que la consulta al médico (generalmente, al dermatólogo) no tiene lugar hasta que aparecen algunos signos «alarmantes» para la estética como, por ejemplo, la caída del cabello. En estos casos, cuando se realiza el diagnóstico, la depleción del hierro suele ser muy intensa, y es frecuente el antecedente de haber sido tratada muchas veces con preparados de hierro con anterioridad. Tambien resulta frecuente la anemia ferropénica que persiste después del embarazo, y que es continuación de un estado ferropénico previo mal tratado y agravado por el propio embarazo, durante el cual no ha existido una suplementación adecuada de hierro.

Estas situaciones indican que el período de ferropenia latente que precede al desarrollo de la anemia puede ser de varios años de duración, y durante el mismo pueden aparecer síntomas de carácter general e inespecífico a los que el enfermo o el médico conceden apenas valor (cansancio, fatiga muscular precoz, irritabilidad y pérdida de memoria, palpitaciones, disnea y cefalea). En el 10% de los casos, aproximadamente, la anemia puede ir acompañada de esplenomegalia[32,33].

Sintomatología de la ferropenia

En realidad, aunque no puede hablarse de sintomatología específica de ferropenia, existen algunos signos y síntomas que sólo se observan en determinados casos o cuando la evolución del proceso es muy prolongado. Entre ellos destacan: la pica (pagofagia, casi siempre), los trastornos tróficoepiteliales (caída del cabello y uñas quebradizas, casi siempre), la disfagia, las escleróticas azules y la disminución de las defensas.

La *pagofagia* es una variedad de la pica que sólo se observa en la anemia ferropénica y que consiste en la necesidad compulsiva de ingerir hielo. Su mecanismo se desconoce y desaparece con la administración de preparados de hierro.

Entre los *trastornos tróficos epiteliales* el más característico es la coiloniquia, propia de un grado avanzado de ferropenia. Consiste en un adelgazamiento progresivo de las uñas, que se hacen estriadas y quebradizas a la vez que sufren una deformación progresiva consistente en la aparición de una concavidad central por la que adquieren el aspecto de cuchara o coiloniquia (fig. 6.16). Otras alteraciones tróficas epiteliales menos específicas de ferropenia son la fragilidad y caída del cabello, la glositis atrófica y la estomatitis angular. Una forma grave de trastorno trófico y manifestación de un estado muy avanzado de ferropenia es el síndrome de Plummer-Vinson o de Paterson-Kelly, que cursa con disfagia (disfagia ferropénica). Obedece a la oclusión parcial de la porción alta del esófago por células procedentes del exceso de descamación epitelial. Este síndrome afecta con mayor frecuencia a mujeres jóvenes que a varones de la misma edad, y su frecuencia se sitúa alrededor del 5-15% de pacientes con anemia ferropénica.

Las *escleróticas azules* como signo de ferropenia fueron descritas en 1908 por Osler, y obedecen a la transparentación de la coroides como consecuencia de su adelgazamiento.

La *disminución de las defensas* es una característica de la ferropenia intensa y prolongada, y su manifestación más frecuente son las infecciones de repetición. Este trastorno se atri-

Figura 6.16. Uñas deformadas y quebradizas (coiloniquia) en un paciente con anemia ferropénica de larga evolución.

buye tanto a una disminución de la capacidad bactericida de los granulocitos debido al déficit de lactoferrina, demostrable mediante la prueba del nitro-azul de tetrazolio (NAT) como a una alteración de la fagocitosis debida a la disminución de lactoferrina o del sistema inmunitario debida a la disminución de la subpoblación linfocitaria T, con aumento de la producción de linfocinas (IL-1 e IL-2). Una prueba de la alteración inmunitaria existente en estos pacientes es la respuesta anómala a las pruebas cutáneas para candidiasis y difteria.

Diagnóstico de la anemia ferropénica

El diagnóstico de anemia ferropénica exige, en primer lugar, la confirmación de la depleción férrica y, en segundo lugar, la investigación de su causa o diagnóstico etiológico. La confirmación del carácter ferropénico de la anemia es fundamental, ya que de ella depende el correcto tratamiento que, en cualquier caso, consiste en la administración exclusiva de preparados de hierro por vía oral. Actualmente, se dispone de numerosas pruebas, todas ellas fiables, que permiten demostrar la existencia de una depleción férrica. Estas pruebas se han clasificado, de acuerdo con su especificidad, en dos grandes grupos: directas e indirectas (tabla 6.7). Las *pruebas directas* son las más sensibles y específicas, porque permiten valorar el contenido en hierro de las reservas de forma directa (hierro macrofágico o hepático y prueba de la flebotomía). En contrapartida, son más incómodas y molestas para el enfermo, por lo que sólo se recurre a ellas cuando son estrictamente necesarias. Se han ensayado técnicas directas no invasivas basadas en el empleo de la resonancia magnética (RM)[38]. Las *pruebas indirectas* son mucho más accesibles en la práctica clínica que las directas, pero, en contrapartida, poseen menor especificidad, especialmente cuando la ferropenia coexiste con otros trastornos capaces de influir sobre ellas. Por todo ello, cuando las pruebas de confirmación diagnóstica de la ferropenia no son concluyentes, debe establecerse el diagnóstico diferencial con otras causas de anemia microcítica e hipocroma, como las talasemias, la anemia inflamatoria o la anemia sideroblástica.

Excepto en mujeres jóvenes y niños, en los que la carencia de hierro constituye un fenómeno casi fisiológico, una anemia ferropénica puede ser el primer signo de una enfermedad eventualmente grave. Por ello, en tales casos, corregir únicamente el estado ferropénico mediante la administración de un preparado marcial puede constituir una forma grave de malpraxis médica. Así, una vez confirmado el carácter ferropénico de la anemia, las exploraciones deben ir encaminadas a determinar su origen o diagnóstico etiológico, entre las que destacan todas aquellas exploraciones necesarias para confirmar o descartar la presencia de hemorragias ocultas o pérdida crónica de hierro (tabla 6.8). Entre ellas, destaca la búsqueda de sangre oculta en heces mediante procedimiento isotópico. Este procedimiento consiste en marcar eritrocitos del paciente con ^{51}Cr y, una vez reinyectados, detectar la presencia de radiactividad en las heces. La presencia de radiactividad confirma la pérdida de sangre y, además, permite determinar fácilmente el volumen de sangre perdida (mL/24 h). La demostración de sangre en heces debe continuarse con un estudio lo más completo posible del aparato digestivo, al objeto de hallar el lugar preciso de la hemorragia[21].

Para el diagnóstico de una anemia ferropénica es imprescindible la realización de las pruebas que se exponen a continuación.

Hemograma

Al igual que en cualquier anemia, la conducta diagnóstica inicial consiste en la práctica de un hemograma y la observación de los índices eritrocitarios: volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM) y dispersión (amplitud) de la curva de distribución eritrocitaria (ADE). Aunque la alteración de estas magnitudes sólo es evidente

TABLA 6.7

Pruebas generales para el diagnóstico de ferropenia

Directas
Tinción de Perls del aspirado medular
Prueba de la flebotomía
Histoquímica de biopsia hepática
Indirectas
Índices eritrocitarios (VCM, HCM y CCMH)
Morfología eritrocitaria
Concentración de hierro en plasma (sideremia)
Capacidad total de saturación de la transferrina (CTST)
Índice de saturación de la transferrina (IST)
Concentración de ferritina en plasma
Zn-Protoporfirina (ZPP) eritrocitaria
Prueba de la desferrioxamina

TABLA 6.8

Pruebas de laboratorio para el diagnóstico de la anemia ferropénica

	Unidades clásicas	Sistema SI
Sideremia (*Pla-hierro,c*)	50-150 µg/dL	9,0-26,9 µmol/L
Capacidad total de saturación de la transferrina (CTST)	250-450 µg/dL	45-73 µmol/L
Índice de saturación de la transferrina (IST)	28-35%	28-35%
Ferritinemia (*Pla-ferritina,c*)		
Normal	18-300 ng/mL	18-300 µg/L
Déficit	0-12 ng/mL	0-12 µg/L
Exceso	> 400 ng/mL	> 400 µg/L
Cinc protoporfirina eritrocitaria (ZPP) (*Ers-Protoporfirina,c*)	15-50 µg/mL	0,28-0,90 µmol/L

cuando ya existe anemia, su realización simple y económica les confiere un gran valor práctico[32,33]. Igualmente, en la anemia ferropénica bien desarrollada, la observación morfológica de la extensión de sangre permite apreciar siempre la hipocromía o disminución del contenido en hemoglobina de los eritrocitos (fig. 6.17). La automatización, no obstante, al informar de forma rápida y precisa sobre el tamaño eritrocitario (VCM) constituye, hoy día, el único criterio fiable para demostrar el carácter microcítico de la anemia. Además, la posibilidad de detectar pequeñas variaciones del mismo, imperceptibles al examen microscópico, permite seguir el desarrollo natural de la ferropenia o su respuesta al tratamiento. Junto con el valor del VCM, el grado de dispersión de la ADE tiene también cierto valor, ya que en la microcitosis ferropénica se halla prácticamente siempre aumentado, lo que pone de manifiesto un grado variable de anisocitosis eritrocitaria. Asimismo, debe señalarse que la microcitosis ferropénica va acompañada siempre de una disminución proporcional de la HCM, reflejo de la hipocromía evidenciable mediante la observación morfológica de la extensión de sangre.

Figura 6.17. Aspecto morfológico del frotis de sangre periférica en un paciente con anemia ferropénica de larga evolución. Apréciese la intensa hipocromía y un polinuclear hipersegmentado (pleocariocito).

Junto con las alteraciones eritrocitarias, la anemia ferropénica suele ir acompañada de una moderada trombocitosis, que casi nunca supera la concentración de 700 x 10^9/L plaquetas (trombocitosis reactiva) y que se normaliza con el tratamiento marcial. Los leucocitos, especialmente en las formas avanzadas de ferropenia, pueden presentar cierto grado de hipersegmentación del núcleo, y rara vez un moderado aumento de su concentración en sangre (leucocitosis reactiva). La leucocitosis, cuando existe, siempre es a expensas de los polinucleares neutrófilos (neutrofilia). La leucocitosis también desaparece con el tratamiento.

Estudio del hierro en sangre

En la práctica clínica, las pruebas de laboratorio más usuales para comprobar el estado del metabolismo del hierro son las que se representan en la tabla 6.9. No obstante, y dado que el desarrollo de una ferropenia es un proceso secuencial, la interpretación de las magnitudes del suero o plasma relacionadas con el metabolismo del hierro depende de la etapa evolutiva de su desarrollo. Es decir, estas pruebas sólo son útiles para confirmar el carácter ferropénico de una anemia, y pocas veces para detectar un estado de ferropenia latente (fig. 6.18).

TABLA 6.9

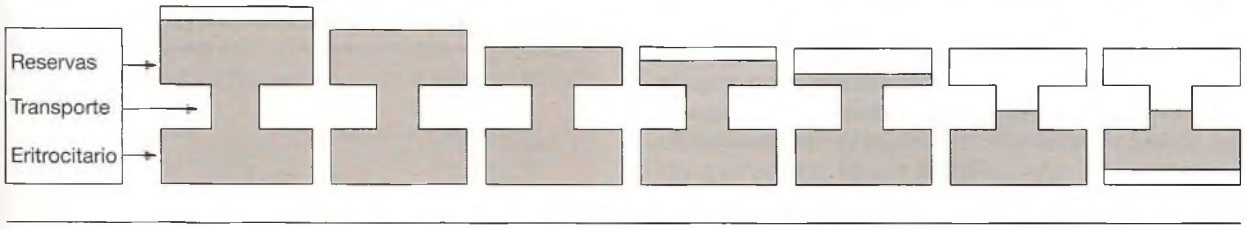
Exploraciones complementarias útiles en el estudio etiológico de una anemia ferropénica de origen desconocido

1. IMPRESCINDIBLES
   - Investigación de sangre oculta en heces
   - Examen endoscópico o radiográfico de vías digestivas altas (úlcera péptica, hernia de hiato, carcinoma gástrico, varices esofágicas)
   - Enema opaco y endoscopia de vías digestivas bajas (colitis ulcerosa, carcinoma de colon y ciego)
   - Sigmoidoscopia (colitis ulcerosa, carcinoma de recto)
   - Examen del sedimento urinario (hematuria, hemosiderinuria)

2. OPCIONALES
   - Examen radiológico de tórax (en casos de neumopatía)
   - Cistoscopia y/o pielografía (en caso de hematuria)
   - Búsqueda de parásitos en heces (en caso de anquilostomiasis)
   - Exploración de la función hepática (en caso de cirrosis hepática)
   - Prueba de la tolerancia a las grasas y biopsia de yeyuno (en caso de esteatorrea)
   - Angiografía intestinal (angiodisplasia)
   - Laparotomía exploradora (en caso de hemorragia digestiva crónica de origen desconocido

La *concentración de hierro en el plasma* (sideremia) varía con la edad y el sexo, y es más elevada en el hombre que en la mujer. En la anemia ferropénica, la sideremia disminuye por debajo de 30 µg/dL (5 mmol/L) y suele ir acompañada de un aumento (inconstante) de la capacidad total de saturación de la transferrina (CTST) y de una disminución (prácticamente constante) del índice de saturación de la transferrina (IST). El valor del IST es el reflejo más fidedigno de un estado de ferropenia bien desarrollado, ya que permanece invariable en presencia de grandes variaciones del hierro de reserva, pero cuando disminuye por debajo del 16% constituye (excepto en el hipotiroidismo) un signo de eritropoyesis ferropénica[32,33]. La valoración conjunta de la sideremia, CTST e IST es de gran utilidad, no sólo para conocer la etapa evolutiva de la ferropenia sino también para su diagnóstico diferencial con otras causas de anemia microcítica e hipocroma no debidas a ferropenia, como la talasemia y los trastornos de utilización del hierro (anemia inflamatoria) (fig. 6.19).

La concentración de *ferritina en plasma* constituye otra magnitud hematológica de valor diagnóstico en la ferropenia, ya que, al ser un reflejo del hierro de reserva, permite detectar una ferropenia en estado prelatente, es decir, muy inicial. Al igual que la sideremia, la concentración de ferritina en plasma varía con el sexo y la edad y, en caso de ferropenia simple, es prácticamente siempre inferior a 10 µg/L (13 nmol/L)[39]. No debe olvidarse que la ferritina es un reactante de fase aguda, y que puede variar en situaciones diversas que nada tienen que ver con el hierro de los depósitos como, por ejemplo, en los procesos inflamatorios agudos o crónicos con citólisis (hepatopatías, infartos, infecciones, hemólisis, administración de citostáticos), en la insuficiencia renal (disminución del aclaramien-



Hierro medular	4+	3-4+	2-3+	1+	Trazas	0	0
Sideroblastos (%)	40-60	40-60	40-60	40-60	40-60	< 10	< 10
Sideremia (µg/dL)	200	> 150	115 ± 50	< 115	< 115	< 60	< 40
Transferrina (µg/dL)	< 300	< 300	300-330	330-350	330-350	≈ 400	> 400
IST (%)	> 60	> 50	35 ± 15	≈30	< 30	< 16	< 10
Ferritina sérica (µg/L)	> 250	> 250	100 ± 60	< 25	< 20	10	< 10
PPE (µg/dL)	30	30	30	30	30	100	200

IST: índice de saturación de la transferrina; PPE: protoporfirina eritrocitaria.

Figura 6.18. Pruebas de laboratorio útiles para el estudio de las diferentes etapas que intervienen en el desarrollo de una anemia ferropénica y para demostrar la posible existencia de un exceso de hierro.

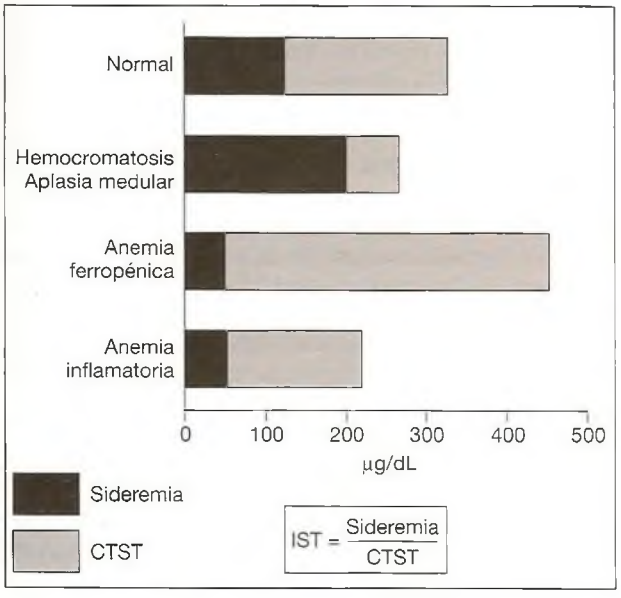


Figura 6.19. Relación entre sideremia, capacidad total de saturación de la transferrina (CTST) e índice de saturación de la transferrina (IST) en el diagnóstico diferencial de la anemia microcítica e hipocroma.

to plasmático), en la enfermedad de Hodgkin y otros linfomas o en ciertas neoplasias productoras de ferritina (carcinoma broncopulmonar). Es interesante recordar la existencia de aumentos muy marcados de ferritinemia en la artritis reumatoide, enfermedad de Still del adulto y en el hipertiroidismo. En todas estas situaciones, la medida de la ferritina plasmática pierde su valor como criterio diagnóstico de sobrecarga férrica, pero adquiere interés como prueba adicional para el diagnóstico diferencial de las mismas.

Otras magnitudes útiles en el diagnóstico diferencial entre anemia ferropénica e inflamatoria son la concentración de ferritina y cinc-protoporfirina (ZPP) eritrocitarias, y la medida de la concentración de receptores solubles de transferrina (R-Tf) en plasma.

La *ferritina eritrocitaria* se halla menos influenciada que la ferritina sérica por los factores citados anteriormente, y constituye un índice más fiable del hierro de reserva, aunque presenta como contrapartida la mayor complejidad técnica de su determinación[39]. Los receptores solubles de transferrina (R-Tf) circulan normalmente en el plasma a concentraciones muy bajas, pero aumentan significativamente en situaciones de ferropenia, sobre todo cuando existe un estímulo de la eritropoyesis, por lo que se considera que la medida de los R-Tf solubles constituye un complemento, hoy día imprescindible, de los estudios ferrocinéticos. Finalmente, la determinación de la ZPP eritrocitaria es un índice de la disponibilidad de hierro por parte del eritroblasto. Normalmente, en la última etapa de la síntesis del hemo se incorpora el hierro a la protoporfirina IX, de forma que cuando no existe hierro a incorporar, éste es sustituido por el cinc (Zn) formándose el compuesto llamado cinc-protoporfirina (ZPP), que no atraviesa la membrana eritrocitaria, por lo que su aumento es un signo de ferropenia durante el desarrollo eritroblástico[40]. La especificidad de esta prueba adolece de la misma problemática indicada para la ferritinemia, ya que la ZPP puede aumentar en otras circunstancias diversas y no asociadas a ferropenia, como la talasemia, hepatopatías, neoplasias y, sobre todo, en la intoxicación por plomo o saturnismo. En la anemia inflamatoria los resultados referidos en la literatura médica son variables aunque, a diferencia de la ferropenia, la ZPP suele hallarse disminuida.

Estudio del hierro en médula ósea

Cuando las pruebas diagnósticas mencionadas en el apartado anterior no son concluyentes, debe recurrirse a la tinción de Perls del aspirado de médula ósea. Esta prueba, considerada aún por muchos como engorrosa para el enfermo, es totalmente inocua, y por su gran simplicidad, extraordinariamente útil para valorar de forma directa el hierro de reserva. Al igual que la ferritina sérica, la valoración del hierro medular constituye un criterio diagnóstico de ferropenia prelatente. Así, en esta etapa del desarrollo de una ferropenia se observa una práctica desaparición del hierro macrofágico y una disminución significativa del número de sideroblastos (< 5%). Además, la observación morfológica de la extensión teñida mediante May-Grünwald-Giemsa (MGG) permite apreciar un ligero aumento de la serie eritropoyética en la que alguno de sus elementos presenta rasgos moderados de diseritropoyesis ferropénica (hemoglobinización irregular y citoplasma desflecado, intensa picnosis nuclear y discreta binuclearidad). La tinción de Perls del aspirado medular permite un diagnóstico diferencial rápido y seguro entre anemia ferropénica e inflamatoria ya que, en esta última, el marcado descenso de los sideroblastos va acompañado de un gran aumento del hierro macrofágico. Por el contrario, no resulta tan útil en el diagnóstico de los estados de sobrecarga férrica, ya que al existir en estos casos una alteración en la compartimentalización del hierro, disminuye su llegada a la médula ósea, a la vez que se deposita, generalmente en exceso, en otros órganos, como el hígado y bazo.

Una vez demostrado el carácter ferropénico de una anemia, debe ejecutarse un conjunto de exploraciones necesarias para determinar el origen de la misma, que casi siempre obedece a un sangrado digestivo crónico (tabla 6.9).

Diagnóstico diferencial

El diagnóstico diferencial de una anemia ferropénica no plantea problemas cuando se cumplen todos los criterios biológicos descritos en el apartado anterior y, en especial, la ausencia de hierro en los macrófagos de la médula ósea, demostrada mediante una tinción de Perls del aspirado. Cuando no es así, el diagnóstico diferencial ha de establecerse con todas aquellas enfermedades que pueden acompañarse de microcitosis e hipocromía así como de un comportamiento clínico-biológico muy similar al de la anemia ferropénica (tabla 6.10).

Rasgo talasémico

La causa más frecuente de microcitosis no ferropénica en nuestro medio mediterráneo es la talasemia heterocigota (α,β o δβ-talasemia) que se diferencia de la ferropenia por presentar un estado de sobrecarga férrica en lugar de un déficit (v. Capítulo 10). Al igual que la ferropenia, la talasemia cursa con microcitosis, pero a diferencia de aquella, ésta predomina sobre la hipocromía. La talasemia es esencialmente microcítica y poco hipocroma, al revés de lo que sucede con la ferropenia, que es muy hipocroma y poco microcítica. Aunque el examen del hemograma y la posible utilización de factores discriminantes como el de England-Fraser (VCM – Hb × 5 + eritrocitos + 8), que cuando es negativo permite realizar una primera orientación hacia talasemia, la confirmación diagnóstica requiere la práctica de una electroforesis de hemoglobinas, y demostrar un aumento de la fracción HbA2 en el rasgo β-talasemia y de HbF en el rasgo δβ-talasemia. En el rasgo α-talasemia (forma heterocigota), el VCM se halla moderadamente disminuido, y el patrón electroforético siempre es normal, por lo que el diagnóstico se hace más difícil, ya que requiere demostrar la presencia de la deleción del gen alfa mediante procedimientos de biología molecular (PCR y otros). Cuando la talasemia coexiste con ferropenia (situación que suele darse con relativa frecuencia), el diagnóstico con la β-talasemia (que es la forma de talasemia más frecuente) viene dificultado por el descenso de la fracción HbA2 característico del estado ferropénico. En estos casos, es recomendable repetir la electroforesis de hemoglobinas después de la recuperación del estado normal de hierro mediante tratamiento marcial.

TABLA 6.10

Trastornos del metabolismo del hierro que pueden ir acompañados de microcitosis e hipocromía

CON DISMINUCIÓN DEL HIERRO DE RESERVA
Ferropenia latente
Eritropoyesis ferropénica
Anemia ferropénica
CON AUMENTO DEL HIERRO DE RESERVA
Trastornos de la síntesis de la globina
Talasemias
Bloqueo a nivel del SMF
Anemia de los procesos inflamatorios crónicos
Trastornos de la absorcion, transporte o utilización
Déficit de Tf o alteracion del TfR
Trastornos de la síntesis del grupo hemo
Anemia sideroblástica

Anemia inflamatoria

Este tipo de anemia suele aparecer en el curso de los llamados procesos inflamatorios crónicos que acompañan a enfermedades diversas, cuya característica común es la existencia de un estado inflamatorio, no forzosamente crónico (tabla 6.11). En pacientes de edad avanzada, las causas más frecuentes de anemia inflamatoria son las enfermedades reumáticas, en especial la polimialgia reumática o enfermedad de Horton (que cursa con anemia y VSG superior a 100 mm/h) y las neoplasias ocultas. En este último caso, la presencia de signos periféricos de metástasis medular (reacción leucoeritroblástica) puede ser de gran valor. Igualmente, ante la sospecha de neoplasia oculta, la práctica del aspirado medular debe aprovecharse para investigar la posible presencia de micrometástasis o de cualquier otro signo citomorfológico que permita orientar el diagnóstico. La anemia inflamatoria puede ser moderada o intensa (Hb: 70-110 g/L), y muchas veces es asintomática, por lo que, en principio, no requiere tratamiento. Cuando cursa con normocitosis, lo que es relativamente frecuente, resulta difícil distinguirla de otras causas de anemia, en especial de las de origen central. Por ello, en tales casos cobran valor las pruebas generales del metabolismo del hierro, como una sideremia disminuida con ferritinemia normal o aumentada, CTST normal e IST normal o sólo ligeramente disminuida (tabla 6.12). La característica disociación entre el hierro macrofágico (aumentado) y porcentaje de sideroblastos (disminuido) en el aspirado de médula ósea teñido con la reacción del azul de Prusia (tinción

TABLA 6.11

Causas de anemia inflamatoria

1. **INFECCIONES DIFUSAS O LOCALIZADAS**
   - Endocarditis lenta
   - Brucelosis
   - Septicemia
   - Supuraciones broncopulmonares
   - Osteomielitis
   - Infecciones urinarias crónicas
   - Tuberculosis
   - Sida
2. **ENFERMEDADES SISTÉMICAS**
   - Enfermedades autoinmunes
     - Artritis reumatoide
     - Lupus eritematoso
     - Polimialgia reumática (enfermedad de Horton)
     - Conectivopatías mixtas
     - Dermatomiositis
     - Síndrome de Sjögren
     - Enfermedad de Behçet
     - Periarteritis nodosa
     - Poliartritis reumatoidea
     - Esclerodermia
     - Síndrome de Goodpasture
   - Otras enfermedades
     - Angeítis necrotizante
     - Seudopoliartritis rizomélica
     - Sarcoidosis
     - Enfermedad de Takayasu
   - Enteropatías y hepatopatías crónicas
     - Enfermedad de Crohn
     - Síndrome de Wipple
     - Colitis ulcerosa
     - Hepatitis crónica activa
3. **NEOPLASIAS**
   - Carcinomas diversos
   - Linfomas malignos
   - Enfermedad de Hodgkin
   - Mieloma

de Perls) adquiere aquí su mayor valor diagnóstico. No debe olvidarse que la anemia inflamatoria suele ir acompañada de un aumento plasmático de las proteínas reactantes de fase aguda (PCR, amiloide-A, fibrinógeno, ceruloplasmina, haptoglobina y fracciones del complemento) y cuya determinación puede contribuir también al diagnóstico. Asimismo, una anemia inflamatoria puede ir acompañada también de ferropenia, por lo que la correcta valoración de las pruebas del metabolismo del hierro es aquí especialmente importante. Una de ellas es la concentración de ferritina en plasma. Un paciente afectado de enfermedad inflamatoria y ferritinemia inferior a 30 µg/L (38 nmol/L) tiene ferropenia asociada, mientras que si la ferritinemia es superior a 200 µg/L (256 nmol/L) puede descartarse la ferropenia.

El mecanismo de la anemia inflamatoria es complejo y multifactorial[41] ya que junto a un trastorno del metabolismo del hierro que reduce su disponibilidad para la eritropoyesis, va acompañado de una hemólisis moderada, una disminución de la síntesis de eritropoyetina (Epo) y un defecto de la respuesta de los progenitores eritroides a la misma (fig. 6.20).

El inicio del proceso tiene lugar con la activación de las células T (CD3+) y monocitos por antígenos externos al organismo (infecciones), procesos inflamatorios crónicos, células neoplásicas o alteraciones del sistema immunitario y ulterior liberación de citocinas, como las interleucinas IL-1, IL-6 e IL-10, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) y el interferón gamma (IFN-γ). Estos factores actúan a tres niveles: metabolismo del hierro, eritrocitos y eritropoyesis.

Metabolismo del hierro. La interleucina-6 (IL-6) y el lipopolisacárido (LPS) estimulan la síntesis de hepcidina, una proteína hepática reactante de fase aguda, que inhibe la absorción duodenal de hierro. El IFN-γ, el LPS o ambos, estimulan la actividad de la proteína DMT1, facilitando la entrada de hierro reducido (Fe^{2+}) en los macrófagos. A su vez, la entrada de hierro en los macrófagos se ve facilitada por la interleucina-10 (IL-10), citocina con actividad antiinflamatoria, que modula la expresión de RTf y estimula la penetración de Tf-Fe mediante el mecanismo Tf-RTf-Fe. Junto con esta acción, que facilita la entrada del hierro en los macrófagos, existen otras dos sinérgicas que facilitan su acúmulo e impiden su reutilización: una de ellas es la inhibición de la expresión de la ferroportina 1 por el IFN-γ, el LPS y, probablemente, también la hepcidina, que impide la salida del hierro de los macrófa-

TABLA 6.12

Diagnóstico diferencial de la anemia ferropénica

	Anemia ferropénica	Talasemia menor	Anemia inflamatoria	Anemia sideroblástica
VCM	↓↓	↓↓↓	N	N o ↑
ADE (RDW)	↑↑↑	N	↑↑	↑↑↑
Hipocromía	+++	+	NO	Doble población
Sideremia	↓↓↓	N/↑	↓↓	↑↑↑
IST	< 16%	N	N	N
Ferritinemia	↓↓	N/↑	↑↑	N/↑
ZPP eritrocitaria	↑↑	N	↑↑	N

VCM: volumen corpuscular medio; ADE: amplitud de la curva de distribución eritrocitaria; IST: índice de saturación de la transferrina; ZPP: cinc-protoporfirina.

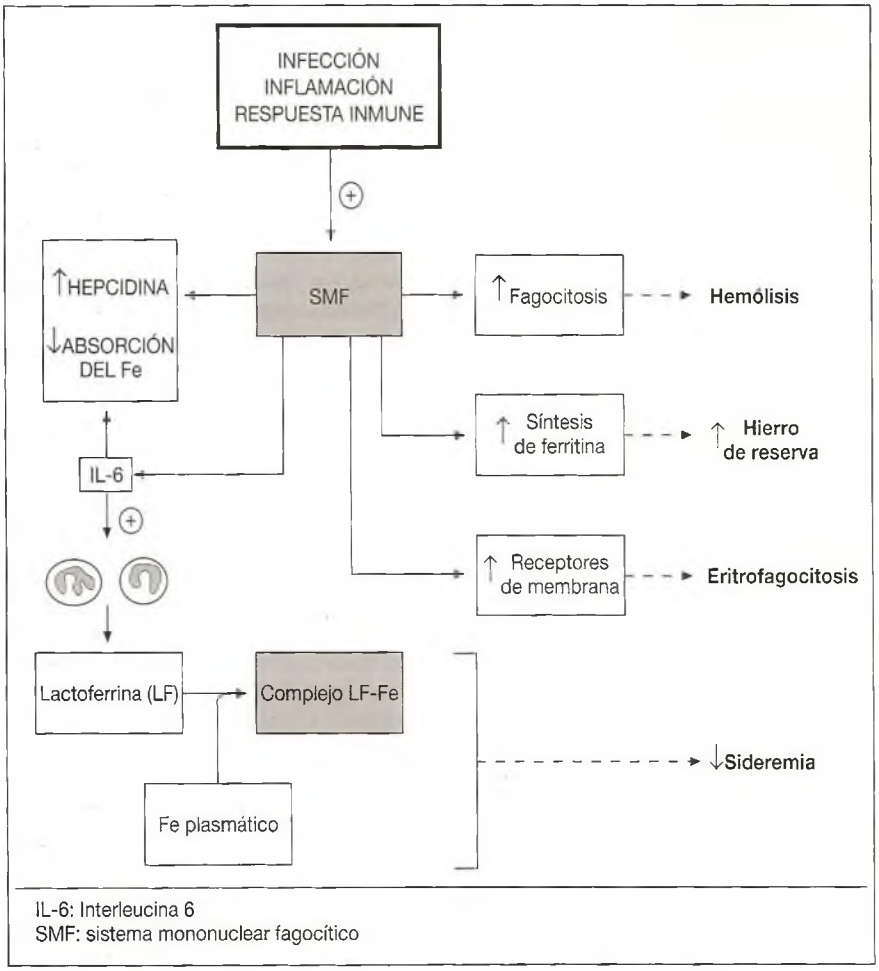


Figura 6.20. La infección activa el sistema mononuclear fagocítico (SMF) y, con ello, el desencadenamiento de diversos procesos entre los que destaca la síntesis de interleucina 6 (IL-6) que estimula la síntesis de hepcidina y la actividad fagocítica de los polinucleares. La hepcidina disminuye la absorción de hierro y su liberación por parte del SMF, con lo que facilita la aparición de una seudoferropenia con aumento de hierro en los depósitos (anemia inflamatoria). El aumento de lactoferrina contribuye a la disminución del hierro circulante (sideremia).

Junto a ello, un aumento de la actividad del SMF facilita la destrucción de eritrocitos (hemólisis), la síntesis de ferritina y el aumento de hierro en los depósitos (sobrecarga férrica).

gos y, otra, es el aumento de la síntesis de ferritina inducida por TNF, IL-1, IL-6 e IL-10, con la inducción de un mayor acúmulo de hierro en el interior de los macrófagos.

Eritrocitos. Los macrófagos activados verían también aumentado su contenido de hierro citoplasmático a través del mecanismo derivado de la degradación del hemo, muy aumentado por la intensa eritrofagocitosis que resulta estimulada por el TNF debido al efecto hemolítico que éste ejerce sobre la membrana eritrocitaria al producir un envejecimiento prematuro de los eritrocitos.

Eritropoyesis. Finalmente, el TNF y el IFN-γ inhiben la producción de eritropoyetina (Epo) por el riñón, y junto con la IL-1 también actúan sobre los precursores eritroblásticos, disminuyendo su sensibilidad al estímulo por la Epo.

En resumen, todos estos mecanismos, actuando de manera conjunta, disminuyen el hierro de la circulación, reduciendo su disponibilidad para la eritropoyesis, aumentan el hierro de los depósitos e inhiben por doble mecanismo la eritropoyesis. La posible ausencia de microcitosis en la anemia inflamatoria se atribuye al mayor número de moléculas de transferrina (Tf) circulantes saturadas con hierro, a pesar de que tanto el número como la afinidad de los receptores de transferrina (R-Tf) por la Tf se hallen disminuidos. Ello supondría un mejor aprovechamiento del escaso hierro disponible, en comparación con la anemia ferropénica, en la que predominan las moléculas de transferrina sin hierro.

Anemia hipocroma hereditaria

Existe un tipo de anemia hipocroma y, generalmente, microcítica por trastorno congénito de la utilización del hierro. El mecanismo íntimo de esta anemia puede ser diverso, pero en general se caracteriza por sideremia normal o elevada y aumento del hierro de depósito. Entre las formas de anemia hipocroma hereditaria destacan las siguientes:

Atransferrinemia

La atransferrinemia, llamada también hipotransferrinemia hereditaria es una enfermedad muy rara que se transmite con carácter autosómico recesivo, y que va acompañada de siderosis tisular, con anemia intensa microcítica e hipocroma, hiposideremia, disminución de la CST y gran aumento de la ferritina sérica, con hemosiderosis hepática demostrada por biopsia o necropsia[42]. Debido a la práctica ausencia de transferrina (Tf) el hierro no puede ser transportado al interior de los eritroblastos cuyo receptor de Tf es normal. Debido a ello existe una eritropoyesis ferropénica que estimula la absorción de hierro a nivel intestinal y genera un estado de sobrecarga de hierro con exceso del mismo en los tejidos de depósito y hemocromatosis. Hasta la actualidad, se han descrito sólo ocho casos de esta enfermedad, y la gravedad del cuadro clínico viene dada por la hemocromatosis que evoluciona a una cirrosis hepática que suele producir la muerte del paciente durante la primera infancia. El diagnóstico requiere la cuantificación de la transferrina sérica, que resulta indetectable.

La *atransferrinemia* no responde a la administración de hierro y sólo a la de transferrina humana purificada o de plasma fresco asociado con agentes quelantes. En un único paciente con anemia hipocroma y características clínicas superponibles a la atransferrinemia (hipersideremia, hemosiderosis hepática y ausencia de hierro medular) en el que se demostró la presencia de anticuerpos contra el receptor de la transferrina[43].

Aceruloplasminemia

El déficit congénito de ceruloplasmina es un defecto autosómico recesivo muy raro que tiene lugar junto a una sobrecarga de hierro por bloqueo en los tejidos de depósito. La ceruloplasmina (Cp) es una proteína homóloga de la hefastina (Hf) a nivel del tejido no intestinal fundamental en el transporte de hierro desde el interior de los macrófagos y tejidos de reserva al plasma. Hasta la actualidad sólo se han descrito dos casos de esta enfermedad hereditaria, que junto a una anemia hipocroma e hiposiderémica se acompaña de trastornos neurológicos por sobrecarga férrica en el sistema nervioso (ganglios de la base) y retina y de diabetes mellitus[44].

Déficit congénito de ferroportina (Ireg1, MTP1)

El déficit de ferroportina (Ireg1, MTP1) se ha descrito en dos familias de Holanda e Italia; se transmite con carácter autosómico dominante y obedece a una mutación del gen SLC40A1. Al igual que en el déficit de ceruloplasmina (Cp) disminuye la salida del hierro desde los depósitos, fundamentalmente macrófagos del sistema mononuclear fagocítico (SMF). No obstante, su comportamiento clínico es algo diferente ya que si bien en su inicio cursa con anemia hipocroma e hiposiderémica, por bloqueo del hierro en el SMF, conforme avanza su evolución el estímulo eritropoyético acompañante genera un marcado aumento de la absorción de hierro, que al poder ser utilizado por los eritroblastos disminuye la intensidad de la anemia y mejora el cuadro clínico. No se han observado alteraciones del sistema nervioso central.

Déficit de DMT-1

La importancia de la proteína DMT-1 en el metabolismo del hierro ha quedado patente con la reciente descripción de un caso de déficit congénito acompañado de anemia hipocroma y sobrecarga de hierro[45]. Se trata de una paciente hija de matrimonio consanguíneo con un cuadro de anemia macrocítica hipocroma de inicio neonatal y requerimiento transfusional (una vez por año). La médula ósea presentaba una intensa regeneración eritroblástica sin reticulocitosis, y junto a una concentracion de ferritina normal se observaron marcados aumentos de la sideremia y del receptor de transferrina (R-Tf) libre. El desarrollo físico fue normal con moderadas alteraciones de la función hepática. Una biopsia practicada a la edad de 18 años demostró una intensa sobrecarga férrica de células de Kupffer y hepatocitos.

Defecto hereditario de ferritina H

En este trastorno, descrito en Japón, existe una anomalía del IRE del RNAm de la ferritina H, y se transmite con herencia autosómica dominante. Aunque se observa un aumento de hierro en los depósitos (macrófagos y hepatocitos), no va acompañada de anemia, ni de anomalías oftalmológicas como sucede en el síndrome hiperferritinemia-cataratas por mutación en el IRE del RNAm de la ferritina L[46].

Anemia ferropénica con malabsorción intestinal

Podría ser causada por defectos de alguna de las proteínas que intervienen en la homeostasis del hierro. También se han descrito algunos pacientes con anomalías del RcTf y clínica muy similar a la de los modelos animales. Sorprendentemente, se ha observado que varias familias con cataratas bilaterales congénitas e hiperferritinemia presentan mutaciones en la región IRE del RNAm de la ferritina L. El papel de la ferritina L en la formación de las cataratas se desconoce.

Anemias hipocromas por patología mitocondrial

Pueden obedecer a una alteración de la síntesis del hemo o a la de grupos Fe-S de la cadena respiratoria mitocondrial.

Anemia sideroblástica congénita. Constituye una forma relativamente poco frecuente de hipocromía congénita y, en la mayoría de casos, obedece a un defecto en la síntesis del grupo hemo. El rasgo común es un estado de sobrecarga de hierro, con acumulación del mismo en el interior de las mitocondrias que presentan alteradas su morfología y propiedades funcionales (sideroacresia). El diagnóstico de esta anemia requiere la realización de un examen morfológico y tinción de Perls del aspirado medular que muestra, junto con un aumento de la serie eritropoyética (con rasgos morfológicos de diseritropoyesis) y del hierro macrofágico, la presencia de un elevado porcentaje de sideroblastos (> 70%, referencias: 30-50%) en muchos de los cuales (> 15%) los precipitados citoplasmáticos de hemosiderina rodean la totalidad del núcleo (sideroblastos «en anillo»). La anemia sideroblástica congénita (ASC) puede presentarse bajo diferentes formas de transmisión hereditaria: ligada al cromosoma X, autosómica dominante, autosómica recesiva o asociada a una citopatía de origen mitocondrial (síndrome de Pearson). La forma ligada al cromosoma X es la más frecuente, y la anemia afecta de forma prácticamente exclusiva a individuos del sexo masculino, si bien puede aparecer en mujeres con sintomatología, debido al fenómeno de Lyon. El sustrato bioquímico de esta forma de anemia sideroblástica parece ser un déficit congénito de δ-ALA sintetasa, aunque algunos autores consideran la posibilidad de otras enzimopatías de la vía de síntesis del grupo hemo o incluso mutaciones del genoma (DNA) mitocondrial[47]. Clínicamente, se caracteriza por una anemia de inicio neonatal o durante la primera infancia de carácter moderado o intenso, normocítica o microcítica-hipocroma, que va acompañada de un estado de sobrecarga de hierro.

En el llamado síndrome de Pearson, la anemia sideroblástica constituye una manifestación más de un trastorno multisistémico grave, con insuficiencia pancreática, acidosis láctica y, eventualmente, insuficiencia hepática y renal. La anemia siempre es neonatal, ligeramente macrocítica y, con frecuencia, acompañada de reticulocitopenia, leucopenia, plaquetopenia y aumento de la HbF. Existe una forma leve de este trastorno en la que sólo se aprecia una anemia moderada. El 25%, aproximadamente, de los pacientes con anemia sideroblástica congénita responde a dosis farmacológicas de vitamina B_6 (fosfato de piridoxal), por lo que éste es el tratamiento de elección inicial en todos los casos, y permite diferenciar las anemias sideroblásticas en dos grupos: sensibles e insensibles al piridoxal. La dosis recomendada oscila entre

50 y 200 mg/día, y cuando existe sobrecarga de hierro, este tratamiento debe complementarse con desferroxiamina.

Ataxia de Friedrich. Obedece a mutaciones del gen que codifica la frataxina, y va acompañada de sintomatología neuromuscular grave e importantes acúmulos de hierro intramitocondrial.

Anemia sideroblástica con ataxia. Obedece a mutaciones en la región ABC del gen *B7* (ABCB7) que codifica la síntesis de un transportador de grupos Fe-S desde la mitocondria al citoplasma celular. Se transmite con carácter autosómico recesivo y presenta alteraciones comunes a las dos vías metabólicas mitocondriales conocidas del hierro mitocondrial. Clínicamente, cursa con anemia microcítica e hipocrómica, y ataxia cerebelar no progresiva, que se manifiesta en los primeros años de vida.

Tratamiento

El tratamiento de la anemia ferropénica tiene tres vertientes: etiológico, sintomático y preventivo.

Tratamiento etiológico

Consiste en eliminar la causa que produce la anemia ferropénica. Si ésta es una hipermenorrea, puede reducirse mediante la administración de anovulatorios. Las causas digestivas tanto benignas (pólipo intestinal, hernia de hiato, hemorroides) como malignas (neoplasia) exigen, en general, un tratamiento quirúrgico. Cuando la causa es un incremento de las necesidades fisiológicas, la administración preventiva de hierro constituye el tratamiento más eficaz.

Tratamiento sintomático

Tiene dos finalidades: aumentar la concentración de hemoglobina y restaurar los depósitos de hierro. La base del mismo consiste en la administración de preparados de hierro (no hematínicos que contienen otros principios madurativos, como, por ejemplo, ácido fólico y cobalamina), siempre por vía oral.

Administración de hierro por vía oral. La administración de hierro debe hacerse de manera preferente en forma de sales ferrosas, dada su mejor absorción intestinal y su menor coste. Entre ellas, destacan el sulfato ferroso (el más recomendado) y las sales ferrosas de gluconato y fumarato.

Las *sales ferrosas* son fácilmente oxidables en solución, por lo que suelen administrarse en forma de cápsulas o tabletas[49]. Los preparados de sulfato ferroso anhidro contienen 30 mg de hierro elemental cada 100 mg y se suministran en comprimidos de 200 mg. En consecuencia, un comprimido de sulfato ferroso anhidro suele contener 60 mg de hierro elemental. Una dosis diaria de preparado debe aportar entre 100 y 200 mg de hierro elemental, lo que significa que deben prescribirse entre 2 y 3 tabletas de sulfato ferroso, distribuidas a lo largo del día y administradas siempre antes de las comidas. Dado que en el estado ferropénico la absorción intestinal de hierro (normal: 5-10%) puede aumentar hasta el 25-30%, la dosis citada permite ingresar diariamente en el organismo un total de 20-40 mg de hierro. La respuesta favorable a este tratamiento se pone de manifiesto por un aumento del número de reticulocitos, que empieza hacia el cuarto día de iniciar el tratamiento y persiste durante unos 12 días. Simultáneamente, se observa un aumento progresivo de la hemoglobina (aproximadamente, 0,15 g/L por día) hasta que se alcanzan los valores normales a las 4-10 semanas de iniciar el tratamiento. Con todo, una vez restaurado el nivel normal de hemoglobina en sangre, debe continuarse la administración de dosis algo menores del preparado de hierro durante otros 3-6 meses con el objeto de asegurar la restitución completa de los depósitos.

Los *preparados basados en gluconato y fumarato ferroso* son igualmente útiles, aunque en el caso del gluconato, que posee 37 g de hierro elemental, deben prescribirse 5 tabletas diarias en lugar de tres.

Existen diversas circunstancias que impiden una respuesta al tratamiento convencional de la forma en que se ha expuesto (tabla 6.13). Entre ellas, destaca en primer lugar, la intolerancia a los preparados de hierro. Existen enfermos a los que la administración de sales ferrosas produce diferentes efectos, como molestias gastrointestinales (náuseas, vómitos, epigastralgia, diarrea o constipación) o erupción cutánea de intensidad variable. La intolerancia al hierro oral es, sin duda, la causa más frecuente de fracaso de la terapia oral. Con la dosis recomendada (200 mg) se observan efectos adversos en un tercio o más de casos. Para corregirla, pueden intentarse varias opciones, como disminuir la dosis inicial hasta 30-100 mg, ingerir el hierro con las comidas, utilizar preparados protectores de la mucosa gástrica e incluso, si es necesario, administrar antiácidos o bloqueantes histamínicos que afectan a la absorción del hierro. Los problemas de intolerancia llevan a plantear la necesidad de iniciar el tratamiento con dosis de 200 mg de hierro, o bien comenzar directamente con dosis inferiores (60 a 120 mg/día o entre 30 y 100 mg/día). Con estas dosis, la respuesta es más lenta, pero se asegura una mejor tolerancia y se evitan la mayoría de los abandonos terapéuticos. Con dosis superiores a 100 mg/día no se consiguen mejores resultados finales, pero sí más efectos secundarios.

TABLA 6.13

Causas de resistencia a la ferroterapia oral

- Persistencia de las hemorragias
- Intolerancia:
  a los preparados de sulfato ferroso
  a cualquier ferroterapia oral
- Interrupción o toma irregular de la medicación
- Causa oculta de malabsorción
- Diagnóstico erróneo o existencia de procesos patológicos no bien identificados
- Síndromes inflamatorios crónicos
- Insuficiencia renal o hepática
- Enfermedades malignas

Administración de hierro por vía parenteral. La administración de hierro por vía parenteral sólo debe prescribirse cuando fracasa o no es recomendable la vía oral[50]. Esto sucede cuando el paciente persiste con la intolerancia a los preparados orales o cuando existen factores que puedan alterar la respuesta a la ferroterapia. Por todo ello, sus indicaciones son limitadas, y las presentaciones disponibles en cada país son diferentes.

El *hierro-sorbitol* es de uso exclusivo intramuscular, contiene 50 mg/mL y difunde rápidamente. El hierro sérico alcanza su máximo a las 2 horas, y vuelve a los niveles previos a las 24 horas; el 20-30% se pierde por la orina. Suele

administrarse 100 mg en una sola inyección cada 1-3 días; se recomienda no administrar más de 100 mg cada día, ya que si se supera esta cantidad, aparece hierro libre circulante. Para calcular la cantidad de hierro total que se debe administrar puede utilizarse la siguiente fórmula:

Hierro a inyectar (mg) = 15 – Hb (g/dL) × peso corporal (kg) × 3

Además, suelen añadirse 500-800 mg para crear un depósito de hierro. Otra forma más sencilla de utilización es la de recomendar una inyección cada dos o tres días, y realizar controles mensuales para valorar la respuesta; según ésta, se ajustará la pauta.

El *hierro-dextrano* es una suspensión coloidal de complejos Fe-dextrano en forma de microesférulas de 5 nm de diámetro, con un peso molecular de 73 kDa. Cada partícula posee un core de FeOOH; la forma comercial es de 50 mg/mL de hierro elemental. Actualmente, en muchos países de la UE resulta difícil conseguir preparados de hierro dextrano con facilidad. La dosis total que se debe administrar se calcula de modo similar al anterior, y puede usarse por vía intramuscular o endovenosa.

Existen dos formas de administración endovenosa: como infusión de la dosis total (esta forma no está admitida por la FDA) o administración de 2 mL (100 mg) diariamente de excipiente no diluido en infusión, a una velocidad máxima de 1 mL/min (forma admitida por la FDA) o por vía intramuscular. En el primer caso, la dosis total administrada se calcula mediante alguna de las fórmulas recomendadas, y el preparado se diluye a razón de 5 mL de Fe-dextrano por cada 100 mL de suero fisiológico (unos 500-1.000 mg de Fe-dextrano en 500 mL de suero fisiológico). Una modificación consiste en administrar toda la dosis repartida en tres tomas consecutivas. Se recomienda siempre, antes de la infusión, realizar una prueba de tolerancia administrando 30 mL de la preparación diluida en unos 2 minutos. Si no existe reacción, se aumenta la velocidad a 40-60 gotas/minuto.

El *hierro-sacarato* es un complejo de hidróxido férrico-sucrosa, compuesto por núcleos de hidróxido férrico recubiertos por moléculas de sacarosa y tiene un peso molecular de 43 kDa. Al inyectar 100 mg, el pico máximo se obtiene a los 10 minutos, con una vida media de 6 horas. El volumen de distribución es similar al plasmático, con escasa eliminación renal (< 5%). Puede administrarse por vía endovenosa diluido con suero fisiológico, 1 ampolla en 100 mL para administrar en 15 minutos, 200 mL en 30 minutos, etc. No debe usarse por vía intramuscular ni en la forma de perfusión de dosis total. Otra forma de administrarlo por vía endovenosa directa, 1 mL por minuto, no administrando más de 2 ampollas, o sea, 200 mg de hierro. Se ha utilizado en la anemia postoperatoria, en hemodiálisis y en el tratamiento de la anemia del embarazo.

El *gluconato férrico sódico* se utiliza de forma similar a los anteriores, y la presentación más útil contiene 62,5 mg de hierro en cada ampolla. Existe una gran experiencia con este fármaco en toda Europa, pues es ampliamente utilizado para tratar pacientes con anemia por insuficiencia renal crónica en hemodiálisis.

Efectos secundarios del hierro parenteral. En cuanto a los efectos locales, la administración intramuscular produce dolor, coloración de la piel o, incluso, adenitis locorregional. La administración endovenosa puede provocar efectos locales en forma de tromboflebitis o dolor en la vena, reacciones sistémicas de gravedad intermedia en forma de hipotensión, cefalea, urticaria, náuseas y reacciones anafilactoides. Por último, otras reacciones pueden ser graves, en forma de shock anafiláctico, o retardadas, dando lugar a una forma de enfermedad del suero con fiebre, artralgias, adenitis regionales, leucocitosis, etc. Las reacciones aparecen en el 13% de las inyecciones y en el 26% de los pacientes; de ellos, en el 5% son moderadas y en el 0,6%, graves. El 1% experimenta reacciones graves retardadas como una enfermedad del suero. La mayoría de estas reacciones se han producido con el Fe-dextrano, mientras que con el gluconato-férrico sódico hay, por una parte, menos efectos secundarios digestivos que con el tratamiento oral, y, por otra, menos efectos anafilácticos y menos graves que con el Fe-dextrano. En EE.UU., empleando gluconato-férrico sódico se han observado 3,3 eventos alérgicos por cada millón de dosis/año, frente a 8,7 por millón de dosis/año usando Fe-dextrano, pero sin accidentes mortales. Por el contrario, mediante el empleo de Fe-dextrano, en 31 de 196 casos (15,8%) se observaron reacciones graves.

Falta de respuesta a la ferroterapia

La falta de respuesta a la ferroterapia puede obedecer a varias causas, y entre ellas debe indagarse, en primer lugar, la existencia de pérdidas sanguíneas muy abundantes, la toma irregular de la medicación por el paciente o la coexistencia de otros procesos patológicos, como una causa no diagnosticada de malabsorción, estados inflamatorios crónicos, insuficiencia renal o hepática o neoplasias ocultas que, en cualquier caso, exigen un nuevo y más profundo estudio clínico del paciente. Finalmente, en la hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN), enfermedad que suele cursar con ferropenia causada por la pérdida crónica de hierro por la orina, la administración de hierro puede ser perjudicial por cuanto puede aumentar la gravedad de la hemólisis.

Un exceso de hierro administrado puede producir, sobre todo en los niños, intoxicaciones graves e incluso la muerte por colapso circulatorio. Los síntomas de la intoxicación por hierro se han clasificado en cuatro grandes estadios: 1) trastornos gastrointestinales (vómitos, diarrea y melenas), shock, letargia y coma (a las 6 horas de la ingestión); 2) recuperación y, eventualmente, recuperación total (entre las 6 y 24 horas de la ingestión); 3) acidosis metabólica, y 4) obstrucción intestinal. En casos irrecuperables, la muerte suele sobrevenir entre las 12 y las 48 horas de la ingestión.

Tratamiento preventivo

Tiene como finalidad evitar la aparición de ferropenia. Dada su prevalencia en prácticamente todas las poblaciones del mundo y la importancia del factor carencial en determinados grupos de alto riesgo (niños y mujeres jóvenes), compete a las autoridades sanitarias de los países –y no sólo de los subdesarrollados– procurar evitar la aparición de ferropenia mediante la aplicación de diversas estrategias. Éstas consisten, esencialmente, en un aporte suplementario de hierro a las poblaciones de alto riesgo o en el establecimiento de programas de fortificación[51]. De entre los micronutrientes existentes en la naturaleza, sólo el hierro, la vitamina A y el yodo son, actualmente, objeto de programas públicos de salud a nivel mundial. Si bien resulta imposible erradicar por completo las anemias por falta de hierro en poblaciones desnutridas, puede reducirse bastante si se aplican medidas básicas, como cambios dietéticos, fortificación de alimentos, suplementación con hierro cuando

existe necesidad, y control de las infecciones. En los países subdesarrolados y poblaciones depauperadas, la fortificación de los alimentos se ha revelado como la forma más eficaz. En los países desarrollados deben evaluarse convenientemente las relaciones coste-beneficio sanitario, coste-efectividad y viabilidad de la actuación elegida, antes de tomar una decisión final sobre la estrategia a seguir. Así, en países altamente desarrollados como EE.UU. y Suecia, que enriquecen la harina con 29 a 36 mg de hierro/kg y 65 mg de hierro/kg, respectivamente, se ha conseguido reducir el porcentaje de individuos afectados de ferropenia hasta un 6-7%. En países como el nuestro, donde la prevalencia de la ferropenia es moderada, la OMS recomienda la realización de programas de fortificación global o dirigida a las poblaciones de alto riesgo (niños y mujeres premenopáusicas o embarazadas). Esta acción no debe aplicarse al grupo de población formada por varones adultos, ya que ello puede comportar aumentos del atesoramiento férrico, especialmente si se tiene en cuenta la alta prevalencia del gen de la hemocromatosis en los países desarrollados (entre el 3 y el 10% de la población son portadores heterocigotos). Por ello, es más recomendable restringir la suplementación a sólo las poblaciones de riesgo antes mencionadas (30 mg/día de hierro a partir de las 12 semanas del embarazo, y 0,25 mg/día de folato a partir del cuarto mes). En cualquier caso, tanto las repercusiones sanitarias de la ferrodeficiencia como sus consecuencias en el rendimiento laboral, hacen altamente aconsejable este tipo de estrategias en las poblaciones de riesgo mencionadas, porque contribuyen a disminuir el número de visitas médicas y a elevar la calidad de vida de la población.

ESTADOS DE SOBRECARGA FÉRRICA

El hierro es un elemento esencial para la vida. Es imprescindible para asegurar el transporte de oxígeno, catalizar reacciones de transferencia de electrones y para la síntesis del DNA. En el apartado anterior se ha tratado el déficit de hierro, que es la causa de la enfermedad más prevalente en la especie humana: la anemia ferropénica. Sin embargo, en sociedades desarrolladas no es la ferropenia la alteración más frecuente del metabolismo de este metal, sino la sobrecarga[52]. Las mismas características que hacen del hierro un elemento insustituible por su capacidad de aceptar y donar electrones, le capacitan, en situaciones de atesoramiento patológico, para causar lesiones tisulares importantes (oxidación debida a la formación de radicales libres).

Como ya se ha expuesto en la sección anterior, el hierro en solución puede presentarse bajo dos estados de oxidación: Fe^{2+} y Fe^{3+}. A pH fisiológico, el Fe^{2+} se oxida fácilmente a Fe^{3+}, que precipita bajo forma de hidróxido férrico. Por ello, los organismos vivos han desarrollado un gran número de proteínas que permiten vehiculizar el hierro dentro de los fluidos biológicos o a través de las membranas celulares, y poderlo mantener en reserva en una forma fácilmente disponible, pero no tóxica. El hierro es absorbido en el organismo por el intestino en el duodeno, y sus únicas vías de eliminación consisten en la descamación de células intestinales y de la piel, así como la caída del pelo y la menstruación, la gestación y la lactancia en las mujeres. Como no existe ningún mecanismo de excreción activo del hierro, el control de la absorción intestinal es el único sistema que permite evitar la sobrecarga. Una vez absorbido, el hierro se une a la transferrina plasmática en forma de Fe^{3+}. El hierro unido a la transferrina es ligado selectivamente por receptores celulares, e internalizado dentro de vesículas de endocitosis, para ser posteriormente liberado en el interior de la célula gracias a la acidificación que se produce dentro de la vesícula endosómica, uniéndose finalmente a la proteína ferritina. Cuando existe gran cantidad de hierro, éste puede sobrepasar la capacidad de unión de transferrina y ferritina, y aparece Fe^{2+} libre, que puede entrar en las células por difusión pasiva y sin control alguno. Además, el hierro no unido a transferrina puede catalizar la formación de radicales libres mediante la reacción de Fenton, al reaccionar con peróxido de hidrógeno y producir radicales hidroxilo. Los radicales libres son especies químicas muy reactivas, que poseen un electrón desaparejado que les confiere una gran inestabilidad energética. El hierro puede estar en el origen de la peroxidación de los ácidos grasos insaturados que constituyen las membranas celulares. Después de la peroxidación, estos ácidos grasos son degradados, induciendo la desestabilización de las membranas y el mal funcionamiento de los componentes celulares. Asimismo, se ha demostrado que los radicales libres pueden afectar al DNA y provocar roturas simples o dobles en las cadenas, así como modificaciones en algunas bases. En estos fenómenos se basan las alteraciones orgánicas que se hallan en los diversos trastornos por sobrecarga de hierro, que se detallan a continuación.

Hemocromatosis

La hemocromatosis (HC) es una enfermedad hereditaria, en general autosómica recesiva, que se caracteriza por un incremento de la absorción intestinal de hierro, sobrecarga progresiva de los depósitos corporales de este metal y, finalmente, disfunción de diversos órganos (en especial, hígado, páncreas, corazón y articulaciones) debida a daño radicalario. En España, el 85% de los pacientes son homocigotos para una mutación autosómica recesiva (C282Y) del gen denominado *HFE*, situado en el brazo corto del cromosoma 6. Algunos pacientes son heterocigotos para esta mutación y, a la vez, para una segunda mutación del mismo gen (H63D).

En general, la lesión tisular depende del grado de sobrecarga. Se han considerado tres grados de importancia: mínima: ≈ 1,5 g (concentración de hierro hepático (CHH) > 30 µM/g de tejido seco; moderada: 2-5 g (CHH > 100 µM/g t.s., ferritina ≈ 500 µg/L), y grave > 5 g (CHH > 200 µM/g, ferritina ≈ 750 mg/L). La lesión tisular hepática suele producirse con acúmulos de hierro superiores a 5 g, especialmente cuando otros factores se hallan presentes (p. ej., alcoholismo). En 1865, Trousseau describió un síndrome constituido por la tríada de cirrosis hepática, fibrosis pancreática e hiperpigmentación cutánea, pero no reconoció al hierro en la génesis de dicho proceso[53]. Desde entonces y hasta muy recientemente el concepto de hemocromatosis ha seguido diversas vicisitudes que han contribuido finalmente a definir de forma precisa los aspectos clínicos de la enfermedad. No obstante, la revolución en el conocimiento de la enfermedad se inició con Feder et al en 1996, mediante la identificación de dos mutaciones en un gen estructuralmente similar a los genes HLA de clase I, que se denominó *HFE*, situado en el cromosoma 6, en una zona cercana al locus HLA[54]. Se demostró que una de dichas mutaciones (*C282Y*) explicaba el 80% de casos de la enfermedad cuando se hallaba en forma homocigota. Diversos modelos murinos *knock-out* aceleraron en los años siguientes el

conocimiento de la patogenia de la enfermedad, culminando en el reciente descubrimiento de la hormona reguladora de la absorción del hierro, denominada hepcidina[18].

Prevalencia y penetrancia

La HC afecta fundamentalmente a individuos de raza caucásica, y en Europa presenta un marcado gradiente decreciente Norte-Sur. La mutación *C282Y* del gen *HFE*, principal responsable de la enfermedad, se originó hace unos 4.000 años a.C. en alguna zona del centro de Europa, en la población céltica y en un cromosoma con los genes *HLA-A3* y *B7*. La enfermedad es particularmente frecuente en Noruega, Dinamarca, Islandia, oeste y sur de Alemania, Reino Unido, Irlanda y la Bretaña francesa. En estas zonas constituye la patología genética de mayor prevalencia, afectando hasta a uno de cada 150-200 individuos. La frecuencia alélica de la mutación *C282Y* oscila entre 0,06 y 0,1%[55]. En España es de 0,03 (IC 95% 0,022 a 0,037) en neonatos, mientras que la frecuencia alélica de la mutación *H63D* es de 0,2 (IC 95% 0,19 a 0,22)[56]. El 85% de los hemocromatósicos españoles son homocigotos *C282Y*[17]. En la tabla 6.14 se muestran las prevalencias de neonatos españoles heterocigotos y homocigotos para ambas.

TABLA 6.14

Prevalencia de las mutaciones *C282Y* y *H63D* en neonatos españoles[57]

Heterocigotos	%	Homocigotos	%
C282Y	4,5	*C282Y/C282Y*	0,1
H63D	3,1	*H63D/H63D*	4
C282Y/H63D	1		

En la actualidad, se discute la penetrancia del genotipo *C282Y/C282Y*. No obstante, existe consenso de que la penetrancia es netamente inferior a la inicialmente considerada. Mientras que es incontrovertible que algunos pacientes homocigotos para la mutación *C282Y* del gen *HFE* pueden envejecer más allá de los 80 años sin presentar trastornos orgánicos graves, otras personas sufren complicaciones, como cirrosis hepática, diabetes o hepatocarcinoma en edades tempranas. El acúmulo de hierro en los pacientes afectados también resulta, asimismo, variable. Aunque se han definido algunos factores ambientales que pueden condicionar parcialmente esta diversa evolución (hábito enólico, presencia de marcadores de hepatitis crónica), la opinión más generalizada es que detrás de los casos más graves puede esconderse la interacción de otros genes directores del metabolismo férrico (v. el siguiente apartado).

La penetrancia para *C282Y/H63D* es aún menor, aunque se ha relacionado sin ningún género de duda con la presentación de hemocromatosis en algunos pacientes. No parece que el genotipo *H63D/H63D* pueda ser causa de hemocromatosis por sí solo, aunque se ha demostrado que esta mutación no se trata de un mero polimorfismo, y que afecta a los depósitos corporales de hierro[57]. Existe otra mutación del gen *HFE* (*S65C*) que afecta al 3% de la población del norte de Europa y que presenta un comportamiento fenotípico superponible al de la mutación *H63D*[58]. Se han hallado otras mutaciones en el gen *HFE*, relacionadas con hemocromatosis, pero es tal su rareza que no se tratarán en esta descripción.

Etiopatogenia

En la hemocromatosis, la absorción intestinal de hierro se halla incrementada desde el nacimiento, y este incremento se mantiene a pesar de la sobrecarga de los depósitos férricos. Este fenómeno no produce efecto alguno durante la infancia y la adolescencia ni, en general, en las mujeres fértiles, porque el consumo de hierro debido a crecimiento/menstruación es importante. Fundamentalmente, es en los varones adultos en los que se produce un acúmulo progresivo de hierro en los parénquimas hepático, pancreático, cardíaco y articular que causa lesión tisular y enfermedad[59]. En el artículo original escrito por Feder et al, la mayoría de pacientes con hemocromatosis eran homocigotos para una sustitución de tirosina por cisteína en la posición 282 (*C282Y*) de un polipéptido de estructura similar a los antígenos mayores de histocompatibilidad de clase I. Esta mutación (que destruye un enlace disulfuro crítico para la estructura de la proteína) afecta al correcto transporte intracelular de la proteína HFE, y a su unión con la β_2 microglobulina (β_2M), e impide su presencia en la superficie de la membrana celular. Se han generado modelos murinos *knock-out* y *knock-in* que recapitulan con todo detalle la enfermedad humana[60].

Una pista sobre la implicación patogenética de la proteína HFE en la hemocromatosis se obtuvo al comprobar que esta proteína se une al receptor 1 de la transferrina (TfR1) con una afinidad similar a la de la propia transferrina, reduciendo así la afinidad del receptor por su ligando unido a hierro[12]. Diversos estudios *in vitro* indican que el efecto neto de la proteína HFE en la superficie celular sería el de disminuir la captación de hierro mediante el receptor de la transferrina. No obstante, muchos de estos estudios resultan discutibles, porque las condiciones empleadas en su realización no son representativas de las presentes en el medio *in vivo*.

Tanto en modelos murinos como humanos, el genotipo hemocromatósico (homocigocia para la mutación *C282Y*) provoca un déficit (se desconoce el mecanismo) en la síntesis de hepcidina hepática[61,62]. Esto conlleva un incremento de la absorción intestinal de hierro y un aumento de la cesión de hierro al suero por parte de los enterocitos y los macrófagos, lo cual explicaría la razón de que la mucosa intestinal y el sistema mononuclear-fagocítico de los pacientes con hemocromatosis sean relativamente ferropénicos, un dato que se conoce desde antiguo. Este «vertido incontrolado» de hierro al plasma conduce a un incremento notable de la saturación de la transferrina, un signo que ha constituido durante años el paradigma del diagnóstico precoz de la enfermedad. Dicha hipersaturación de la transferrina conduce a la aparición de hierro libre que, como ya se ha comentado, puede entrar directamente en el hepatocito y otras células nobles, sin regulación, causando acúmulo férrico y la lesión tisular típica de la enfermedad. Parece ser que la hepcidina puede actuar degradando o bloqueando la proteína ferroportina, por lo que se entiende que su acción detenga la absorción de hierro en la célula intestinal y la salida de este metal del compartimento macrofágico (fig. 6.21).

Alteraciones genéticas no relacionadas con el gen HFE

En los últimos años se han descrito diversas alteraciones genéticas no relacionadas con el gen *HFE*, que pueden causar hemocromatosis, y ello ha condicionado una subclasificación de la misma. La hemocromatosis tipo 1 o ligada al gen *HFE*

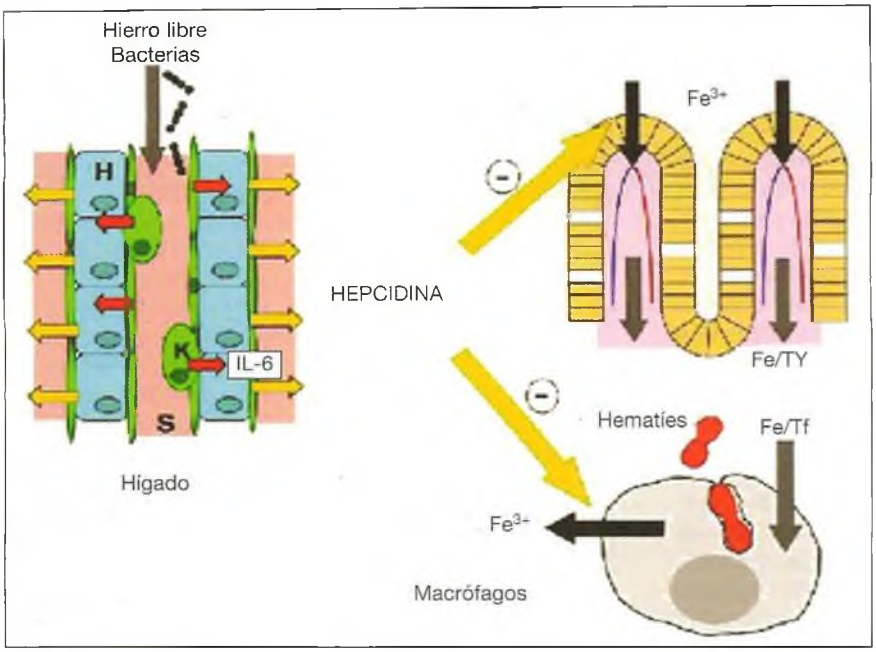


Figura 6.21. Acción de la hepcidina. La hepcidina es sintetizada y liberada por los hepatocitos (H) en respuesta a diversos estímulos, fundamentalmente sobrecarga férrica, infección o liberación de interleucina 6 (IL-6) por las células de Kupffer (K). Dicha hepcidina ejercerá un efecto negativo a dos niveles: la mucosa intestinal y los macrófagos. A nivel de la mucosa intestinal frenará la absorción de hierro. A nivel de los macrófagos impedirá su liberación hacia el plasma para unirse a la transferrina (Tf) y llegar a los eritroblastos. El efecto neto es una caída del hierro sérico y de la saturación de la transferrina. S: sinusoide hepático.

(*OMIM* 235200) es la descrita hasta este punto. La hemocromatosis tipo 2A o juvenil (*OMIM* 602390) presenta un patrón similar, también autosómico recesivo, pero más agresivo y con afectación precoz (en la segunda década de la vida) de órganos diana como corazón, músculo esquelético y gónadas. Muy recientemente, se ha identificado el gen cuya alteración causa con mayor frecuencia este tipo de hemocromatosis y que se ha denominado «hemojuvelina»[20,63]. Se trata de un gen situado en 1q21 y que codifica una proteína de 426 aminoácidos. Se expresa preferentemente en el hígado y en el músculo esquelético, pero se desconoce su función exacta. Un dato que parece clave es que la hemojuvelina interviene en la modulación de otro gen, situado en 19q13, que codifica un péptido de 25 aminoácidos, denominado hepcidina, y que, como se ha expuesto en el apartado precedente, parece clave en la regulación de la absorción intestinal de hierro. En algunos casos de hemocromatosis juvenil (hemocromatosis 2B, *OMIM* 602390) se hallan mutaciones recesivas en el gen de la hepcidina (*HAMP*)[64] y algunos modelos animales muestran que la alteración grave de este gen en forma homocigota provoca un cuadro clínico indistinguible de la hemocromatosis juvenil[63]. Una alteración también recesiva de otro gen situado en 7q22 y que codifica una proteína homóloga al receptor 1 de la transferrina (receptor 2 de la transferrina) causa la hemocromatosis tipo 3 (*OMIM* 604250). Esta alteración se ha hallado solamente en un grupo reducido de familias italofrancesas, y causa un cuadro clínico indistinguible de la hemocromatosis ligada al gen *HFE*. Se considera un tipo muy infrecuente de hemocromatosis, y las alteraciones de este gen parecen presentar una prevalencia mínima. Se ha descrito un cuarto tipo de hemocromatosis (tipo 4, *OMIM* 606069) también denominado enfermedad de la ferroportina, con características diferenciales al resto. Se trata de una alteración dominante del gen *SLC40A1*, situado en 2q32 y que codifica para una proteína que se expresa en el sincitiotrofoblasto, duodeno, hepatocitos y sistema retículo endotelial, y que se conoce con diversas denominaciones (ferroportina 1, *IREG1*, *MTP1*). Clínicamente, los pacientes presentan sobrecarga férrica de predominio macrofágico, con tendencia a la anemización, y mala tolerancia a las flebotomías[66]. Las complicaciones son más leves que en la hemocromatosis tipo 1, pero parece un trastorno relativamente prevalente y que afecta a diversas etnias. No obstante, no se han realizado todavía estudios epidemiológicos para aclarar este punto. Las alteraciones en este gen explicarían también algunos tipos específicos de hemocromatosis característicos de etnias africanas[67]. En una familia japonesa se ha descrito una hemocromatosis tipo 5, también autosómica dominante, con una mutación en el gen que codifica para la subunidad H de la ferritina[47].

En la tabla 6.15 se resumen los diversos tipos genéticos de hemocromatosis.

Puede ser que el péptido hepcidina sea la pieza clave de todas las formas de hemocromatosis. Aparte de lo ya reseñado para los pacientes con hemocromatosis ligada al gen *HFE*, aquellos que presentan hemocromatosis juvenil por mutación homocigota del gen de la hemojuvelina presentan niveles muy deprimidos de hepcidina, lo cual sugiere que la hemojuvelina sea un regulador de la expresión de hepcidina. Datos muy recientes parecen indicar que la hemojuvelina sería una proteína de tipo chaperona, indispensable para la correcta secreción de hepcidina. El otro tipo de hemocromatosis juvenil se caracteriza por mutaciones homocigotas en el gen *HAMP*, responsable de la síntesis de hepcidina, estando alterada, por tanto, la síntesis o estructura de este péptido. También parece ser que funciona este mecanismo en la alteración homocigota del receptor 2 de la transferrina en ratones transgénicos[68], y se desconoce si en aquella, debida a mutaciones de ferroportina 1 también se presenta depresión de los niveles de hepcidina. Además, se han descrito formas de variantes de hemocromatosis debidas a la combinación de algunas de las mutaciones referidas[69,70].

Manifestaciones clínicas

La HC presenta expresividad clínica heterogénea, y a ello contribuyen factores ambientales (dieta, hábito alcohólico, hepatitis vírica) y genéticos no bien conocidos (interacción de alteraciones en más de un gen director del metabolismo férrico). En el pasado, el diagnóstico de la enfermedad se

TABLA 6.15

Causas genéticas de hemocromatosis (HC)

Ligada a HFE (*HFE1*)	– *C282Y/C282Y* – *C282Y/H63D* – *C282Y/S65C*
HC juvenil (*HFE2*)	– Tipo A: mutación homocigota gen hemojuvelina – Tipo B: mutación homocigota gen hepcidina (*HAMP*)
Otras HC	– Mutaciones del receptor 2 de la trasferrina (*HFE3*) – Mutaciones del gen *SLC40A1*-ferroportina 1 (*HFE4*) (única forma autosómica dominante) – Mutación ferritina H

basaba en el complejo sintomático asociado a la misma, fundamentalmente en la tríada de cirrosis, piel bronceada y diabetes. Afortunadamente, la tendencia actual es sospechar la enfermedad a partir de alteraciones bioquímicas precoces, porque la aparición de síntomas clínicos suele evidenciar lesión orgánica irreversible, y constituye en sí misma un fracaso diagnóstico. Los síntomas suelen iniciarse de una forma insidiosa durante la edad media de la vida (tercera a sexta décadas) y es muy infrecuente que individuos más jóvenes desarrollen sintomatología o lesión orgánica[71]. Se distingue un complejo sintomático precoz y uno tardío.

Síntomas precoces

Astenia-fatiga crónica. Se observa en el 40% de los pacientes, se manifiesta precozmente y, en ocasiones, no correlaciona con la presencia de lesiones orgánicas graves. En algunos pacientes, constituye la manifestación clínica más incapacitante. No siempre mejora con el tratamiento.

Somnolencia. Algunas familias con hemocromatosis presentan somnolencia patológica que, en ocasiones, puede llegar a causar accidentes de circulación. Curiosamente, suelen hallarse afectados varios miembros de la familia. Este síntoma no mejora con las sangrías.

Dolor abdominal. Es de tipo cólico, y aparece esporádicamente. Suele confundirse con un abdomen agudo y, en no pocos casos, ha propiciado la intervención urgente del paciente. Suele desaparecer con el tratamiento.

Artralgia-artropatía. En el 50% de pacientes con hemocromatosis aparece artralgia con un sustrato orgánico de artrosis o condrocalcinosis. La articulación afectada con mayor frecuencia es la primera metacarpofalángica, y suele manifestarse como dificultades al escribir (fig. 6.22). También es muy frecuente la artrosis rápidamente progresiva de cadera o de rodillas. No es infrecuente la existencia de pacientes jóvenes diagnosticados de hemocromatosis que han requerido sustitución protésica de estas articulaciones. Aunque se han relacionado estas alteraciones osteoesqueléticas con la presencia de depósitos férricos articulares, esta relación no queda clara. Muchos pacientes con artropatía todavía no tienen importantes acúmulos férricos corporales. Por otra parte, el tratamiento con flebotomías mejora la artropatía de algunos pacientes, pero no la de otros[72].

Afectación tardía

Una vez se ha producido un importante acúmulo tisular de hierro, aparecen los primeros síntomas de alteración orgánica, muchas veces irreversible. Aunque pueden observarse en personas más jóvenes, estas alteraciones suelen producirse en personas mayores de 60 años.

Figura 6.22. Condrocalcinosis en paciente afectado de hemocromatosis. Proyección palma-placa de la mano. Imagen de calcificación bilateral en el ligamento triangular del carpo.

Cirrosis hepática. Se trata de un proceso en varias fases. Inicialmente, la anatomía patológica sólo detecta un gran acúmulo de hierro, fundamentalmente centrado en los hepatocitos y que respeta los macrófagos. Conforme el proceso avanza, aparece fibrosis y, finalmente, cirrosis irreversible del parénquima hepático. El proceso puede ser reversible si se inicia el tratamiento antes de la fase cirrótica. En cualquier caso, la progresión de la enfermedad disminuye notablemente con el tratamiento. La cirrosis por hemocromatosis es un proceso premaligno. La probabilidad de un paciente con HH y cirrosis de desarrollar un hepatocarcinoma es casi 200 veces superior a la de un indidividuo normal. El riesgo de sufrir hepatocarcinoma disminuye drásticamente con la depleción férrica[73].

Diabetes mellitus. Se trata de otro síntoma tardío e irreversible de la enfermedad. El paciente con hemocromatosis y diabetes suele estar afectado, a la vez, de cirrosis hepática, que quizá ha pasado desapercibida. Por tanto, todos ellos deben ser sometidos a una biopsia hepática[73].

Insuficiencia gonadal. Por hipogonadismo primario o secundario. Además de producir déficit en la producción de hormonas sexuales (y amenorrea en las mujeres fértiles), puede asociarse a la disminución en el número y función de los espermatozoides, conduciendo en algunas ocasiones a esterilidad e impotencia. Existen algunos casos en los que la instauración de un tratamiento enérgico y precoz ha revertido el proceso.

Miocardiopatía. Con insuficiencia cardíaca y arritmias. Se trata de un síntoma ominoso, debido al daño radicalario irreversible del tejido miocárdico. Suele preceder por poco tiempo a la muerte del paciente[74].

Hiperpigmentación cutánea. Tez bronceada por aumento de melanina, y tono grisáceo por depósito de hierro en las glándulas sudoríparas y capa basal de la epidermis. En muchas personas de tez clara no se evidencia[75].

Infecciones. Mayor probabilidad de infecciones por algunos agentes patógenos (*Vibrio* spp, *Listeria* spp, *Yersinia* spp, *E. coli* y *Candida* spp).

Diagnóstico

La HC debe diagnosticarse en fases preclínicas, mediante pruebas genéticas o bioquímicas. Algunos pacientes continúan diagnosticándose a partir del complejo sintomático de la enfermedad, pero ello supone un fracaso en sí mismo. El paciente hemocromatósico diagnosticado en fase asintomática podrá evitar todas las compliciones orgánicas graves de la enfermedad mediante un tratamiento sencillo, económico y seguro[76]. Es, pues, en esta fase, en la que el colectivo sanitario debe pretender diagnosticar a los pacientes.

El diagnóstico de HC requiere:

1. Sospecha, por clínica compatible o analítica sugestiva:
   - Ferritina sérica > 400 µg/L.
   - Índice de saturación de transferrina > 45%.

   Ambas en dos ocasiones separadas un mínimo de 3 meses.
2. Valoración de posibles causas adquiridas. Véase la tabla 6.16.
3. Confirmación del acúmulo de hierro mediante la demostración de, al menos, uno de los siguientes:
   - Resonancia magnética compatible. Desde hace tiempo se conoce la capacidad de la RM para evaluar los depósitos hepáticos de hierro, pero el grado de exactitud y reproducibilidad de la técnica eran infraóptimos. Ello llevó a diseñar aparatos tremendamente sofisticados y caros para evaluar de forma no invasiva el hierro hepático, como el SQUID[77]. Posteriormente, se han realizado intentos de desarrollar sistemas diagnósticos basados en el mismo principio pero menos costosos por no precisar material superconductor (que requieren temperaturas muy bajas para su óptimo funcionamiento)[78]. Paulatinamente, los algoritmos de evaluación del hierro mediante RM han mejorado, y en la actualidad puede decirse que constituye una técnica tan válida como la biopsia hepática con cuantificación bioquímica del hierro en aquellos centros que los han implementado[36,79].
   - Tinción de Perls de la biopsia hepática con un acúmulo de hierro de grados 3 o 4, o índice de hierro hepático superior a 1,9 (concentración bioquímica de hierro hepático en mmol/g peso de tejido seco, dividida por la edad del paciente en años). Diversos estudios han evidenciado que no es necesario efectuar una biopsia hepática en los pacientes con ferritina inferior a 1.000 µg/L, biología hepática normal y ausencia de hepatomegalia. Actualmente, no suele tener interés para el diagnóstico de la HC, pero sí puede tenerlo pronóstico (determinación del grado de afectación hepática, grado de reversibilidad, etc.).
   - Flebotomía cuantitativa de por lo menos 3 g de hierro en mujeres o 5 g en hombres, sin inducir deficiencia de hierro (una unidad = 250 mg de hierro). Constituye en sí misma un método diagnóstico y terapéutico.
4. Demostración de la mutación *C282Y* en forma homocigota (o heterocigota doble, *C282Y/H63D*).
5. En caso de que el índice de sospecha para HC hereditaria sea alto y no se hallen mutaciones del gen *HFE* compatibles con el diagnóstico, o bien si la presentación clínica es más agresiva de lo esperable, se debe contactar con centros especializados para la investigación de otras mutaciones conocidas causantes de HC (tabla 6.16).

TABLA 6.16

Causas de sobrecarga férrica secundaria

Anemias	Talasemia mayor, anemia sideroblástica, anemias hemolíticas crónicas, aplasia medular, deficiencia de PK, anemia que responde a piridoxina
Sobrecarga parenteral	– Transfusiones repetidas – Inyecciones de hierro-dextrano – Hemodiálisis
Enfermedad hepática crónica	Porfiria cutánea *tarda*, hepatitis B o C, alcoholismo, esteatohepatitis no alcohólica, shunt porto-cava
Miscelánea	– Síndrome dismetabólico asociado a sobrecarga de hierro – Hemocromatosis neonatal – Aceruloplasminemia e hipotransferrinemia congénita – Sobrecarga férrica del África subsahariana – Atransferrinemia congénita

6. Es muy importante recordar que después del diagnóstico de un paciente, el proceso debe continuar en la familia (hermanos/as) para hallar otros individuos afectados. El *estudio familiar* es genotípico en caso que el individuo probando presentara mutaciones definitorias, y fenotípico si la sospecha de HC es muy alta y no se han detectado mutaciones causales. La figura 6.23 resume un algoritmo diagnóstico para la HC.

Es importante recordar que los pacientes jóvenes (con menos de 25-30 años) con signos bioquímicos de sobrecarga de hierro pueden sufrir hemocromatosis juvenil. Como ya se ha expuesto, esta patología presenta un sustrato genético distinto de la HC clásica. Suele iniciarse en forma de hipogonadismo hipotalámico de inicio muy precoz o fallo cardíaco con insuficienca cardíaca grave[80]. Es importante tratar enérgicamente a estos pacientes con flebotomías, puesto que presentan tasas de mortalidad muy elevadas. En no pocas ocasiones se diagnostica a estos pacientes en la mesa de autopsias, cuando un joven muere a consecuencia de una miocardiopatía rápidamente progresiva de causa no determinada y en ocasiones tributaria de trasplante cardíaco. A pesar de las numerosas pruebas realizadas a estos pacientes, en ocasiones no se practica una medición de saturación de la transferrina o ferritina. Es el patólogo el que, al final, descubre una insospechada sobrecarga letal de hierro. El estudio familiar posterior es obligado.

Tratamiento

El diagnóstico precoz y la instauración temprana de medidas terapéuticas consigue que el paciente con hemocromatosis recupere una esperanza de vida normal, sin merma en la calidad de vida. El tratamiento precoz y continuado disminuye la pigmentación cutánea y mejora el funcionalismo hepático y cardíaco, aunque no consigue revertir las alteraciones endocrinas ni la artropatía, pero sí ralentizar la evolución tórpida de las mismas. El tratamiento mejora el pronóstico incluso de los pacientes con cirrosis hepática, y puede evitar la evolución a hepatocarcinoma, que es la causa de muerte más frecuente. La hemocromatosis, en cualquiera de sus formas, tiene un tratamiento sencillo, económico y eficaz, aunque parezca a primera vista anticuado. Se trata de las flebotomías terapéuticas. Cada flebotomía consiste en la extracción de 450-500 mL en régimen semanal, o incluso dos veces por semana en personas jóvenes. El tratamiento debe instaurarse cuanto antes, dado que el riesgo de aparición de hepatocarcinoma se mantiene mientras lo hace la sobrecarga férrica.

Las flebotomías deben iniciarse con valores de ferritina superiores a 300 µg/L en los hombres y 200 µg/L en las mujeres. En una primera fase, se realizan flebotomías una o dos veces por semana, monitorizando Hb, IST y ferritina cada cuatro sangrías, hasta conseguir IST < 45% y ferritina < 50 µg/L. Una alternativa a las flebotomías semanales la constituye la eritroaféresis bisemanal.

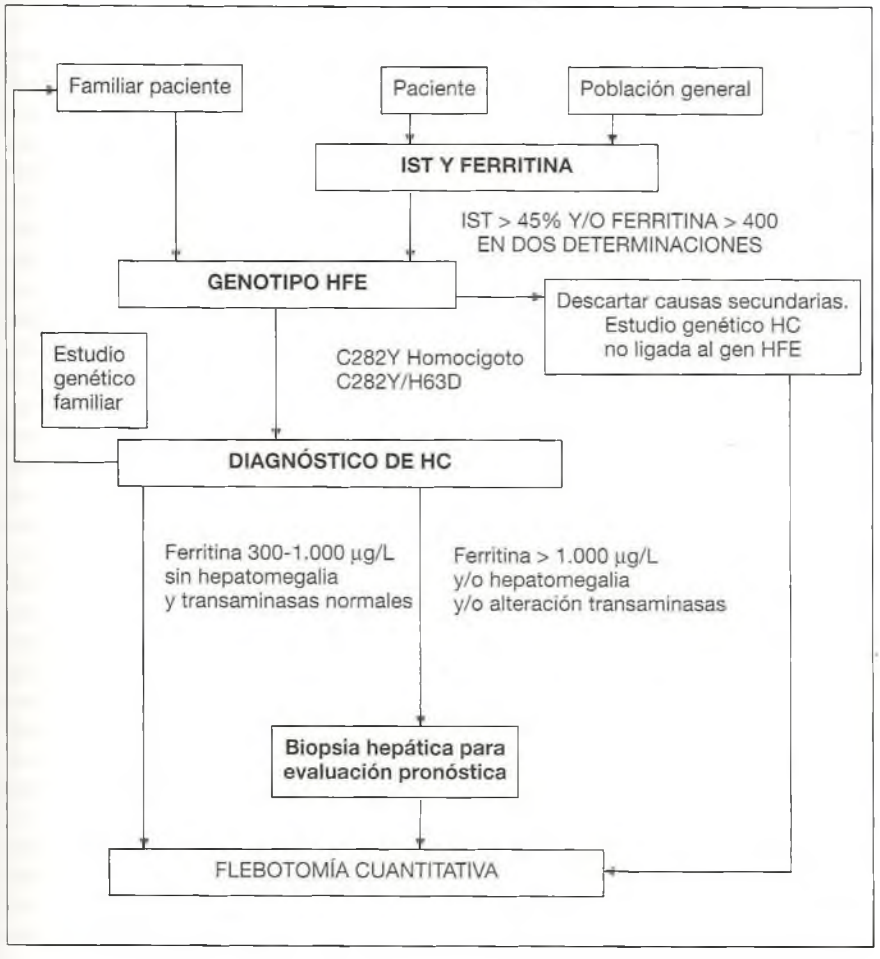


Figura 6.23. Algoritmo diagnóstico. Ante la sospecha de hemocromatosis en un paciente individual o dentro de un progama de escrutinio de la enfermedad, se realizarán estudios de saturación de la transferrina y ferritina sérica. A aquellas personas con prueba positiva en dos ocasiones (separadas por tres meses) en una u otra prueba se realizará estudio del gen *HFE*. Los homocigotos *C282Y* o dobles heterocigotos *C282Y/H63D* son diagnosticados de hemocromatosis, y debe evaluarse la necesidad de biopsia hepática. En cualquier caso, se iniciarán flebotomías y se estudiará el gen *HFE* en los hermanos. En pacientes que no presentan alteración del gen *HFE* se descartarán causas secundarias o alteraciones en otros genes relacionados con hemocromatosis. En los pacientes jóvenes se tendrá en cuenta la posibilidad de hemocromatosis juvenil. IST: índice de saturación de transferrina.

En una segunda fase de mantenimiento, se realizan de tres a cuatro flebotomías al año, para mantener IST < 45% y ferritina < 50 µg/L. Es infrecuente que las flebotomías repetidas produzcan anemización en estos pacientes (salvo en aquellos con HC tipo IV).

A pesar de que la sangre extraída es válida para la transfusión heteróloga (prueba de ello es que no se realizan pruebas de escrutinio de hemocromatosis en los bancos de sangre), no suele admitirse en los servicios de donación de muchos países (entre ellos, España) por entender que la donación no es «altruista», considerando que a pesar que el paciente no obtiene ganancias económicas, sí obtiene un beneficio en salud. En otros países, como Canadá y EE.UU. dicha sangre se considera útil para la transfusión, y los resultados de esta política han sido excelentes[81].

Cuando no es posible la flebotomía debido a la existencia de anemia crónica (situación excepcional), puede administrarse desferrioxamina (Desferín®) subcutánea, durante períodos de 5-6 días/semana, a través de infusores de liberación retardada durante 9-12 h/día. La desferrioxamina presenta escaso perfil de toxicidad, aunque a veces tiene graves efectos adversos y puede producir reacciones anafilácticas, anormalidades visuales y auditivas, retraso del crecimiento y complicaciones infecciosas. No parece eficaz el tratamiento asociado de ácido ascórbico porque favorece la redistribución del hierro de depósito.

Por último, es recomendable que el paciente contacte con una asociación nacional de hemocromatosis para conseguir apoyo psicológico, soporte familiar, contacto con otros afectados, etc. La página web española es http://www.hemocromatosis.org

Escrutinio poblacional. Una cuestion de salud pública

La HC cumple las características recomendadas por la OMS para ser una enfermedad cribable. Estas características consisten en que se trata de una enfermedad prevalente, que se dispone de una prueba sensible y que detecta a los pacientes en una fase reversible asintomática, que se dispone de un tratamiento eficaz y que dicho escrutinio puede disminuir costes sanitarios. Dicho escrutinio podría ser fenotípico (mediante el estudio del índice de saturación de la transferrina en los individuos adultos) o genotípico (mutación *C282Y* del gen *HFE*). La decisión de efectuar o no un escrutinio para la HC y qué tipo aplicar corresponde a cada país y depende del coste-eficacia de la medida y del porcentaje de pacientes que son homocigotos *C282Y*. El coste-eficacia depende, a su vez, de la prueba empleada y de la prevalencia y penetrancia de la enfermedad.

En España ya se tienen datos fiables de la prevalencia, pero todavía faltan datos fidedignos sobre la penetrancia. No obstante, en países vecinos, como Francia, se ha descartado la posibilidad de realizar un escrutinio generalizado de la enfermedad. Dado que la prevalencia en nuestro país es similar o algo más baja, resulta improbable que llegue a aprobarse una medida de esa magnitud. No obstante, los expertos coinciden en que resulta adecuado realizar un escrutinio serológico (índice de saturación de la transferrina y ferritina sérica) a los pacientes con enfermedad crónica hepática, diabetes tipo 2, artritis o impotencia, así como a todos los pacientes que se visitan en Centros de Salud. El motivo de esta práctica es similar al del escrutinio de la hipercolesterolemia, que permite realizar consejos dietéticos o administrar medicación a pacientes que todavía no tienen una enfermedad cardiovascular significativa.

Sobrecarga férrica secundaria

Diversas enfermedades se asocian a sobrecarga férrica secundaria, proceso patológico adquirido que puede agravar la enfermedad de base que la causa (tabla 6.16).

La sobrecarga de hierro postransfusional afecta sobre todo a pacientes con anemias crónicas como la talasemia mayor, la anemia falciforme (en países con un número importante de población negra) o las mielodisplasias (sobre todo en las anemias refractarias simple y sideroblástica). Todos los pacientes politransfundidos deberían recibir tratamiento quelante. El fármaco actualmente más usado es la desferrioxamina. El proceso de quelación del hierro debe iniciarse cuando se adquieren niveles de ferritina superiores a 1.000 mg/L. La vía subcutánea es la de elección para administrar el fármaco y la infusión debe durar 8-10 horas. Deben administrarse 40-50 mg/kg/día. La frecuencia de las infusiones y la posología debe adaptarse en función de la ferritina y hay que intentar mantener un nivel de ferritina entre 500 y 1.000 µg/L. Debe subrayarse que la tolerancia del tratamiento sólo es buena en el 50% de los pacientes. La alternativa oral a este fármaco, la diferiprona, sólo se admite hoy por hoy en pacientes refractarios o con contraindicación o intolerancia al uso de desferrioxamina. La posología es de 75 mg/kg/día, porque a dosis mayores suele presentarse intolerancia digestiva. Las complicaciones más importantes de este fármaco son la agranulocitosis y la neutropenia, que no son infrecuentes. En algunos casos, la diferiprona puede causar fibrosis hepática[82]. En los pacientes con síndromes mielodisplásicos, la edad avanzada que suelen tener dificulta enormemente la instauración de un tratamiento quelante. Además, la corta esperanza de vida asociada al proceso hematológico de base motiva que muchos hematólogos prescindan de iniciar una terapia dirigida a disminuir la sobrecarga férrica. No obstante, deberían individualizarse los casos, e instaurar tratamiento en aquellos pacientes jóvenes en los que, presumiblemente, la supervivencia será prolongada, como, por ejemplo, en las anemias refractarias simples y sideroblásticas y en el síndrome 5 q–. También debería explorarse el papel de los nuevos quelantes orales en estas patologías. Existe también una relación entre la infección por el virus de la hepatitis C (VHC) y la sobrecarga de hierro. Aproximadamente, un tercio de los pacientes infectados por el VHC presentan valores de ferritina anormalmente elevados. Algunos estudios sugieren que los pacientes infectados y con valores elevados de ferritina presentan un pronóstico desfavorable, peor respuesta al tratamiento antiviral y mayor probabilidad de progresión a cirrosis hepática[83]. Sin embargo, parece ser que sólo el 20% de los pacientes VHC positivos con elevación de ferritina presentan una auténtica sobrecarga férrica medible por biopsia. En esos casos es probable que dicha sobrecarga pueda tener un auténtico impacto sobre la enfermedad[84]. El resto tiene hiperferritinemias de probable origen inflamatorio. Cabe esperar que los avances en la cuantificación no invasiva del hierro hepático mediante RM ayuden a subdividir mejor estos grupos de pacientes.

En la aceruloplasminemia se detecta una pérdida de la actividad ferroxidasa plasmática, lo cual conlleva una disminución en el aporte celular de hierro, provocando como consecuencia anemia hipocroma y microcítica. El hierro se acu-

mula en diversos órganos, como el hígado, pero predomina el acúmulo en el cerebro. Ello explica que los síntomas neurológicos sobresalgan dentro del complejo sintomático de la enfermedad. En la hipotransferrinemia o atransferrinemia congénitas, el transporte de hierro se halla muy limitado. La falta de aporte a la médula ósea se traduce en anemia grave. El organismo intenta compensar el déficit de aporte con una mayor absorción férrica en el duodeno, lo que comporta sobrecarga férrica y lesión tisular en el resto de órganos.

La hemocromatosis neonatal constituye un grave proceso, afortunadamente muy infrecuente, que suele conducir a la muerte del neonato poco tiempo después del nacimiento, por fallo hepático fulminante. La sobrecarga férrica hepática es masiva, y se produce a través del tránsito placentario. Se desconoce la naturaleza de este proceso, aunque se han descrito casos familiares.

Entre otras situaciones clínicas relacionadas con la sobrecarga férrica, resultan especialmente intrigantes los vínculos que se han venido observando entre enfermedad cardiovascular, síndrome dismetabólico y sobrecarga férrica (en muchas ocasiones, moderada). En la hipótesis de que la depleción férrica protege contra el ataque isquémico propuesta en 1981, se apreciaba una disminución de episodios isquémicos en los donantes de sangre. Otros autores relacionaron los depósitos férricos con la probabilidad de presentar infarto de miocardio o con la génesis de aterosclerosis coronaria. El colofón a esta línea argumental ha sido la demostración de la existencia de asociación entre la mutación *C282Y* del gen *HFE* y la presentación de episodios isquémicos cardiovasculares y cerebrovasculares, y aterosclerosis[85]. A pesar de que la zona del cromosoma 6 en la que se encuentra el gen *HFE* es muy rica en genes y que, por tanto, no puede descartarse que el auténtico responsable de estas asociaciones sea un gen próximo al locus *HFE*, quizá no relacionado con el metabolismo del hierro, puede establecer plausibilidad biológica entre sobrecarga férrica, incremento del daño oxidativo y daño endotelial consecuente. En los últimos años, se ha definido el síndrome dismetabólico asociado a sobrecarga de hierro y la asociación existente entre los niveles de ferritina y los factores de riesgo cardiovascular, como la hipertensión, dislipemia e hiperinsulinemia y resistencia a la insulina[86,87]. También se ha detectado una asociación entre los niveles de ferritina y el riesgo de desarrollar síndrome dismetabólico e incluso con la probabilidad (independiente de otros factores pronósticos) de desarrollar diabetes 10 años más tarde del momento en que se midieron los niveles. Estas relaciones ya conocidas y posibles implicaciones causa-efecto serán, sin duda, estudiadas en un futuro próximo.

Por último, un tema poco estudiado es el de la sobrecarga férrica secundaria a politransfusión en los pacientes tratados con quimioterapia; particularmente en los sometidos a trasplante de progenitores hematopoyéticos. Las repetidas transfusiones que usualmente se practican a los pacientes afectados de enfermedades hematooncológicas provocan un incremento de los depósitos de hierro corporal que se traduce en elevados índices de ferritina. El tratamiento de acondicionamiento previo al trasplante supone un duro revés al metabolismo férrico por diversos motivos: paro brusco de la eritropoyesis y del tráfico de hierro al eritrón, disminución de la síntesis hepática de transferrina y citólisis hepática con liberación de ferritina cargada con hierro al espacio extracelular. Todo ello condiciona una elevación de la saturación de transferrina, con generación de hierro libre en el plasma, de marcado carácter tóxico. La presencia de hierro libre puede aumentar la lesión endotelial generalizada, agravar la destrucción de mucosas secundaria al acondicionamiento, amplificar los mecanismos radicalarios de toxicidad y, además, supone un riesgo por el aprovechamiento ilegítimo que de dicho hierro pueden hacer patógenos potencialmente peligrosos. Y todo ello en un momento de gran susceptibilidad a las infecciones, debido a la neutropenia e inmunosupresión inherentes al procedimiento del trasplante. Nuestro grupo ha estudiado este fenómeno, constatando que la supervivencia de los pacientes después del trasplante es menor en aquellos con gran sobrecarga férrica antes del mismo o con importante discontrol férrico durante la quimio-radioterapia de acondicionamiento. El porcentaje de pacientes fallecidos después de un trasplante ablativo con índice de hierro hepático superior a 1,9 supera el 80%, y en aquellos con concentraciones de hierro hepático superiores a 150 µmol/g en tejido seco se produjo la muerte con mayor frecuencia por infección invasiva por *Aspergillus* sp, la principal causa de muerte infecciosa del paciente neutropénico. Parece imprescindible investigar si una terapia ferrodeplectiva antes del trasplante (eritroaféresis soportadas con eritropoyetina, uso de quelantes), durante el mismo o postrasplante pueden mejorar la supervivencia y morbilidad de estos pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hinzmann R. Iron metabolism. Iron deficiency and anaemia. From Diagnosis to Treatment and Monitoring. Sysmex J Inter 2003; 13:65-74
2. Andrews NC. Pathology of iron metabolism. En: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, McGlave, PE (eds.). Hematology. Basic Principles and Pratice, 4.ª ed. Elsevier. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005; 473-47.
3. Conrad ME, Umbeit JM. Patways of iron absorption. Blood Cells Molecules and Diseases 2002; 29:336-355.
4. Brissot P, Troadee MB, Loreal O. The clinical relevance of new insights in iron transport and metabolism. Current Hematology Reports 2004; 3:107-115.
5. Provan D, Griben J. Molecular Haematology. 2.ª ed. Blackwell Publishing, 2005.
6. Kuhn LC. m-RNA-protein interactions regulate critical pathways in cellular iron metabolism. Brit J Haematol 1991; 79:1-5.
7. Girelli D, Olivieri O, De Franchesi L et al. A linkage between hereditary hyperferritinemia not related to iron overload and an autosomal dominant congenital cataract. Brit J Hematol 1995; 90:931-934.
8. Cazzola M, Bergamashi G, Tonon L et al. Hereditary hyperferritinemia-cataract syndrome: Relationship between phenotypes and specific mutations in the iron-responsive element of ferritin light-chain mRNA. Blood 1997; 90:814-821.
9. Cassey JL, Henze MW, Koeller DM et al. Iron responsive elements: regulatory RNA sequences that control mRNA levels and translation. Science 1988; 240:924-928.
10. Morgan EH. Transferrin: Biochemistry, Physiology and Clinical significance. En: Molecular Aspects of Medicine. Oxford: Ed. Pergamon, 1981.
11. Remacha AF, Altès A. Nuevos avances en la patología de las alteraciones del metabolismo férrico. Haematologica 2000; 85(Supl 2):25-32.
12. Feder JN, Penny DM, Irrinki A et al. The haemochromatosis gene product complexes with the transferrin receptor and lowers its affinity for ligand binding. Proc Natl Acad Sci USA 1998; 95:1472-1477.
13. Lebron JA, Bennett MJ, Vaughn DE et al. Crystal structure of haemochromatosis protein HFE and characterization of its interaction with transferrin receptor. Cell 1998; 93:111-123.

CAPÍTULO 7

Anemia megaloblástica y otras causas de macrocitosis

J. L. Vives Corrons

ÍNDICE

Macrocitosis, megaloblastosis y anemia macrocítica
Metabolismo de la cobalamina y el folato
Cobalamina (Cbl)
Absorción
Transporte
Metabolismo y utilización de la Cbl
Folato
Absorción
Transporte
Metabolismo y utilización del folato
Anemia megaloblástica
Etiología
Déficit de cobalamina
Déficit de folato
Mecanismo no carencial
Fisiopatología
Manifestaciones clínicas
Manifestaciones de carácter general
Formas clínicas de la anemia megaloblástica
Diagnóstico
Confirmar el carácter megaloblástico de la anemia
Conocer la vitamina deficiente
Averiguar la causa del déficit vitamínico
Tratamiento
Déficit de cobalamina
Déficit de folato
Bibliografía

MACROCITOSIS, MEGALOBLASTOSIS Y ANEMIA MACROCÍTICA

Existe *macrocitosis* cuando los eritrocitos tienen un tamaño superior al normal, lo que se traduce en un aumento del volumen corpuscular medio (VCM > 98 fL). Cuando la macrocitosis va acompañada de anemia (*anemia macrocítica*) obedece, prácticamente siempre, a un trastorno madurativo de la serie eritropoyética (*megaloblastosis*) casi siempre debido a un déficit de factores vitamínicos, esencialmente, cobalamina (vitamina B_{12}) y folato. Otras veces, la macrocitosis obedece a causas diversas sin implicación de un trastorno de la maduración (*macrocitosis no megaloblástica*). En estos casos, la macrocitosis no suele ir acompañada de anemia. Ambas formas de macrocitosis (megaloblástica y no megaloblástica) pueden diferenciarse por el aspecto morfológico de los macrocitos. Así, mientras que en la macrocitosis megaloblástica los macrocitos son ovalados (macroovalocitosis) y con valores de VCM generalmente muy elevados (VCM > 110 fL), en la macrocitosis no megaloblástica los macrocitos tienen forma normal (normocitos) y el valor de VCM sólo es algo superior a 100 fL. Cabe destacar que en la macrocitosis megaloblástica, debido al problema madurativo implicado y que afecta a todas las líneas madurativas de la hematopoyesis, suelen observarse otras alteraciones morfológicas características, tanto en los eritrocitos, por ejemplo, inclusiones diversas (cuerpos de Howell-Jolly, anillos de Cabot y punteado basófilo) como en los granulocitos neutrófilos (hipersegmentación) o en las plaquetas (anisocitosis con plaquetopenia).

En la anemia megaloblástica el trastorno de la maduración eritroblástica puede evidenciarse fácilmente mediante el examen morfológico de la médula ósea, que muestra precursores eritroides (proeritroblastos y eritroblastos) con alteraciones morfológicas características, consistentes en un tamaño superior al que corresponde a su estadio madurativo («megalo» = grande) y un núcleo de cromatina laxa y aspecto inmaduro («blastos» = inma-

duro). Estos eritroblastos se denominan *megaloblastos*, término, introducido por Ehrlich para describir la disociación madurativa entre el núcleo y el citoplasma debida a un retraso en el alargamiento de la fase S de la mitosis (megaloblastosis). El trastorno madurativo produce la muerte precoz de los eritroblastos en la médula ósea, es decir, antes de terminar el proceso madurativo, fenómeno que se conoce como aborto medular o eritropoyesis ineficaz. Igualmente, los eritroblastos que llegan a madurar dan lugar a eritrocitos grandes (macrocitos) y con las alteraciones antes mencionadas, motivo por el cual presentan un acortamiento de su supervivencia en la circulación o hemólisis. El mecanismo fisiopatológico de la anemia megaloblástica es, por tanto, doble: eritropoyesis ineficaz y hemólisis aunque el primero es el que contribuye mayoritariamente a la anemia[1]. La macrocitosis megaloblástica obedece prácticamente siempre a un déficit de alguno de los factores vitamínicos esenciales para la síntesis del DNA (cobalamina y folato) y, por ello, constituye una forma de anemia carencial. En las etapas muy iniciales del desarrollo de una anemia megaloblástica puede existir una macrocitosis aislada que puede confundirse con otras causas de macrocitosis no megaloblástica. En este caso, la determinación de los factores vitamínicos en el suero o plasma, o la de homocisteína plasmática (HCY) permite realizar un diagnóstico precoz y aplicar el tratamiento antes de que aparezca la anemia[2]. Una anemia megaloblástica carencial responde siempre a la administración terapéutica de la vitamina deficiente, y cuando ello no es así, o cuando sólo responde a dosis farmacológicas, no es carencial, y puede obedecer a otros mecanismos hereditarios o adquiridos. Aunque la macrocitosis es el signo más característico del déficit de cobalamina o folato, no debe olvidarse que puede existir también la afectación de otros tejidos del organismo con elevado recambio celular, como el epitelio o las mucosas. Además, el 10%, aproximadamente, de los pacientes con déficit de cobalamina presentan trastornos neurológicos debido a la desmielinización de los cordones laterales y posteriores de la médula espinal (degeneración combinada lateroposterior o mielosis funicular). En el déficit de folato, la afectación sistémica es más rara, aunque se han descrito también signos de afectación metabólica, psicosis o trombofilia debido al aumento concomitante de la HCY. Además, el déficit de folato puede facilitar también la aparición de defectos del desarrollo (espina bífida), cambios tróficos de los epitelios y lesiones preneoplásicas en el aparato digestivo y en el sistema pulmonar[3].

La macrocitosis no megaloblástica, a diferencia de la megaloblástica, suele cursar sin anemia y con síntesis normal de DNA (tabla 7.1). Debido a ello, la macrocitosis no megaloblástica nunca va acompañada de trastornos tróficos de piel o mucosas ni de neuropatía.

TABLA 7.1

Causas de macrocitosis no megaloblástica

1. **AUMENTO DE LA ERITROPOYESIS NORMAL**
   - Anemia hemolítica
   - Anemia posthemorrágica
2. **AUMENTO DE LA SUPERFICIE ERITROCITARIA**
   - Hepatopatía crónica
   - Ictericia obstructiva
   - Postesplenectomía
3. **APLASIA MEDULAR**
4. **DISERITROPOYESIS**
   - Síndrome 5q–
   - Anemia sideroblástica adquirida
   - Anemia diseritropoyética congénita tipo I
5. **HÁBITOS TÓXICOS**
   - Alcoholismo
   - Tabaquismo
6. **HIPOTIROIDISMO**
7. **MIELOPTISIS**
8. **ENFERMEDAD PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÓNICA (EPOC)**
9. **ARTEFACTOS DE RECUENTO ELECTRÓNICO**
   - Crioaglutininas
   - Hiperglucemia
   - Sangre conservada
   - Hiponatremia
10. **IDIOPÁTICA**

METABOLISMO DE LA COBALAMINA Y EL FOLATO

Cobalamina (Cbl)

Estructuralmente la cobalamina (Cbl) está constituida por tres partes. El grupo corrina constituido por cuatro anillos tetrapirrólicos unidos en el centro por un átomo de cobalto (Co), el nucleótido benzimidazol (5'6' dimetilbenzimidazol), que se une a una de las valencias libres del Co, y un radical (R) variable, que se une a la última valencia libre del cobalto (fig. 7.1). Los diferentes tipos de cobalamina presentes en la naturaleza difieren en el tipo de radical (R) unido a la sexta valencia del cobalto, y sus principales formas activas en el organismo humano son la metilcobalamina y 5'-desoxiadenosilcobalamina, ambas muy inestables (tabla 7.2). La vitamina B_{12} propiamente dicha es la cianocobalamina, y en ella el radical es un grupo cianida. Aunque la cianocobalamina es, en realidad, un artefacto de extracción, el término «vitamina B_{12}» suele emplearse como sinónimo de Cbl en cualquiera de sus formas activas. En realidad, la cianocobalamina, debido a su gran estabilidad, se utiliza como preparado comercial para demostrar la existencia de absorción *in vivo* de la cobalamina (prueba de Schilling).

Hay dos aspectos bioquímicos importantes que se deben considerar: el estado de oxidación del grupo Co y los análogos de la vitamina B_{12}. El estado de oxidación condiciona el funcionamiento de la Cbl: la forma reducida o Cob(I)alamina o B_{12s}, la forma parcialmente oxidada

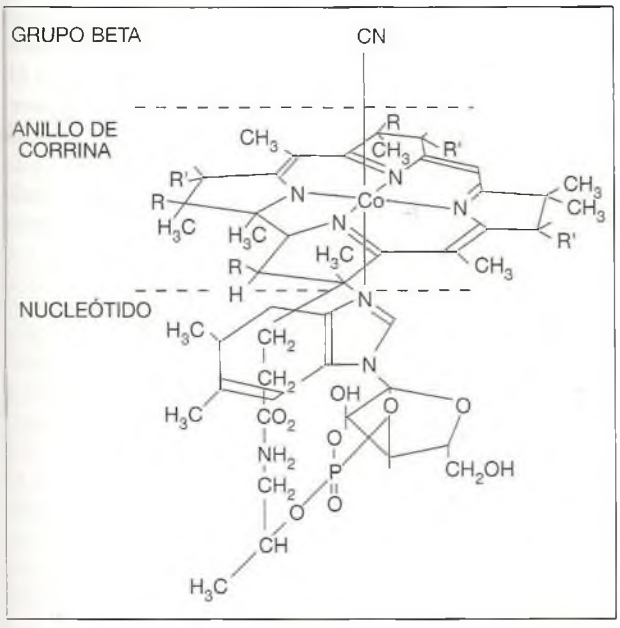


Figura 7.1. Estructura de la cianocobalamina (vitamina B_{12}).

Cob(II)alamina o B_{12r}, y la completamente oxidada Cob(III)alamina o B_{12}, que es inactiva. El óxido nítrico (N_2O) interacciona con la forma reducida y la transforma en la forma totalmente oxidada inactiva, por lo que la intoxicación por N_2O constituye una causa de megaloblastosis.

Junto a la Cbl, existen diversos análogos sin actividad vitamínica, conocidos con el nombre de corrinoides (tienen el grupo corrina). Existen tres tipos de corrinoides: las cobalamidas en las que no existe el nucleótido, las cobamidas en las que existe otro nucleótido, y otras formas, en las que se ha sustituido el cobalto por otro metal (Cu, Ni, Zn). Estas sustancias pueden identificarse en el plasma y en otros líquidos corporales, y se forman en el tracto digestivo por síntesis de la flora saprofita o son adquiridos con la dieta. Su función es discutida; algunos los han implicado en la neuropatía de la vitamina B_{12}. Un aspecto metodológico importante es que en los métodos diseñados para dosificar la vitamina B_{12} debe usarse el factor intrínseco gástrico (FI) que sólo se une a la vitamina B_{12} y no a las cobalofilinas, R-Binders o haptocorrinas (HC).

Las necesidades diarias de cobalamina oscilan entre 2 y 5 µg, y no existen grandes variaciones con la edad y el sexo. El contenido total de cobalamina del organismo oscila entre 2 y 5 mg (en los adultos), de los cuales 1 mg se halla en el hígado, reserva que se agota en 3 a 4 años si cesa el aporte. Aunque la vitamina es sintetizada activamente por numerosas bacterias saprofitas intestinales, su aprovechamiento es mínimo ya que toda la que se produce por este mecanismo es eliminada por las heces. Esto hace que deba ser necesariamente aportada con la dieta. Las fuentes de cobalaminas son los alimentos de origen animal, como la carne (tejidos muscular y cardíaco), hígado, riñones, glándulas, huevos, queso, leche, pescado y crustáceos. De ellos, destacan el hígado y los riñones, cuyo contenido en cobalamina puede superar los 150 µg por cada 100 g. Una dieta normocalórica estándar (2.500 kcal) contiene, aproximadamente, unos 15-30 µg de vitamina, de los que se absorben entre 2 y 5 µg, cantidad que cubre ampliamente las necesidades diarias de la misma. Dado que los vegetales carecen totalmente de cobalamina, una dieta vegetariana estricta puede ser causa de anemia megaloblástica[4].

Absorción

La absorción de la cobalamina es un proceso bien regulado en el que, además de la propia vitamina, se requiere la presencia de otro compuesto que, al ser aportado por el propio organismo, se conoce como *factor intrínseco* (FI). El FI, conocido también como *factor de Castle* en honor a su descubridor, es una glucoproteína (peso molecular: 45 kDa) sintetizada por las células parietales (oxínicas) del fundus y cardias gástricos. El FI se une exclusivamente a la Cbl (Cbl-FI) pero no a sus análogos, y su secreción es estimulada por los mismos efectores que la del ácido clorhídrico (acción del vago, histamina o sus análogos, insulina y gastrina), y es inhibida por la somatostatina y los bloqueantes del receptor H-2 (cimetidina). Este efecto inhibidor explica que una toma excesiva y prolongada de cimetidina pueda dar origen a una anemia megaloblástica[5]. El FI desaparece en una enfermedad autoinmune denominada gastritis atrófica, que es la causa más frecuente de anemia megaloblástica por déficit de cobalamina en la práctica clínica (anemia perniciosa).

En los alimentos, la Cbl no se halla nunca en forma libre sino unida a grupos diversos (MeCbl, OHCbl y AdoCb) y coexiste con numerosos análogos. Las etapas que intervienen en su absorción son fundamentalmente tres: gástrica, duodenoyeyunal e ileocólica.

Fase gástrica. En el estómago, la Cbl es liberada de los alimentos y se combina con transportadores digestivos. La

TABLA 7.2

Formas activas de la cobalamina

Denominación	Grupo R*	Localización preferente
Cianocobalamina (vit. B_{12})	– CN (cianida)	Artefacto de purificación Preparado farmacológico (prueba de Schilling)
Metilcobalamina	– CH_3 (metilo)	Plasma
Desoxiadenosilcobalamina	– 5-desoxiadenosil	Hígado de mamíferos
Hidroxicobalamina	– OH (hidroxilo)	Preparado farmacólogico

*R: radical unido a la sexta valencia del cobalto.

liberación de la Cbl se inicia ya con la preparación de los alimentos que la contienen (calor debido a la cocción), proceso que viene facilitado por la acidez gástrica y la pepsina (fig. 7.2). La Cbl, una vez liberada de los alimentos, se une a un transportador llamado haptocorrina (HC) que es una glucoproteína de movilidad electroforética rápida (proteína-R) segregada por la saliva y la mucosa gástrica. En medio ácido, tal como sucede en el estómago, la HC presenta mayor afinidad por la Cbl que por el FI, por lo que existirán muchos más complejos HC-Cbl que FI-Cbl. Es de señalar que los análogos de la Cbl también se unen a la HC, aunque presentan menor afinidad, pero no al FI, específico para la Cbl.

Fase duodenoyeyunal. En el ámbito intestinal se produce el encuentro de tres jugos: la bilis, el jugo pancreático y el gástrico. En el duodeno la alcalinización del medio y la acción de las proteasas pancreáticas (quimotripsina, tripsina y elastasa) degrada la HC (HCd) que pierde su afinidad por la Cbl, y ésta se une al FI (FI-Cbl). Por su parte, la HCd se une a los análogos de la Cbl que, junto al exceso de Cbl, se elimina por la bilis entrando a formar parte del ciclo enterohepático de la Cbl. En este ciclo, la Cbl biliar, una vez en el duodeno se unirá al FI, con lo que en esta fase duodenoyeyunal coexisten diversos complejos: FI-Cbl, HC-Cbl, HC-análogos y HCd-análogos. Esta etapa es tan importante en la absorción de la Cbl que los pacientes con pancreatitis crónica e insuficiente formación de proteasa duodenal pueden padecer anemia megaloblástica por déficit de cobalamina[6].

Fase ileocólica. La Cbl es absorbida en forma de complejo FI-Cbl cuando se halla en concentraciones fisiológicas (1,5-2 µg), aunque puede hacerlo por difusión pasiva cuando las concentraciones oscilan entre 10 y 1.000 µg. El complejo FI-Cbl se une a un receptor específico situado en la membrana apical de las células del íleo conocido como cubilina o IFCR y una vez en el interior de la célula ileal, se forma un lisosoma en el que el FI es destruido por la acción conjunta de la exoglucosidasa y la peptidasa, y la Cbl es liberada y captada por la transcobalamina II (TC-II), forma en la que es transfe-

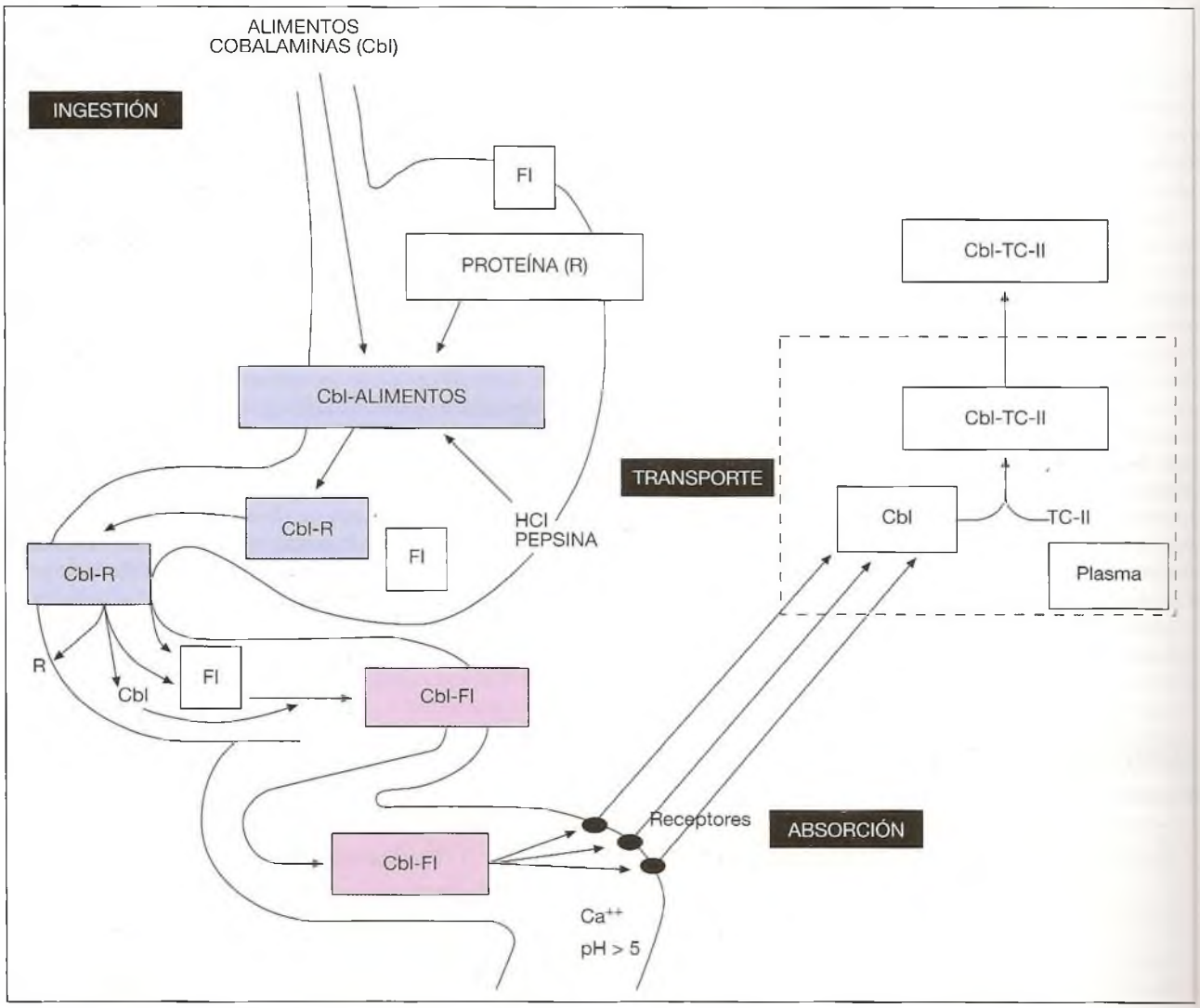


Figura 7.2. Absorción y transporte de la cobalamina. FI: factor intrínseco; R: proteína R; HCl: ácido clorhídrico; Ca^{++}: calcio; TC-II: transcobalamina II.

rida al plasma sanguíneo a través de un proceso de transcitosis. Los análogos y el resto de la Cbl no absorbida son eliminados por las heces junto con las HCd[7].

Transporte

La Cbl es transportada por el plasma pero nunca circula libre sino siempre unida a dos tipos de proteínas circulantes: la transcobalamina II (TC-II), que es el transportador natural, y las cobalofilinas que fijan la Cbl, pero no la transportan[8]. Normalmente, sólo el 30% de la Cbl se halla unida a la TC-II y el resto (70%) se halla unida a las cobalofilinas.

La *transcobalamina II* (TC-II) es una proteína de 38 kDa, sintetizada por diferentes células del organismo (hígado, fibroblastos, macrófagos, células endoteliales y probablemente también enterocitos) y es el único transportador plasmático de la Cbl. El aclaramiento plasmático de la Cbl recién absorbida por la TC-II es prácticamente inmediato, ya que ésta facilita la entrada de la vitamina en el interior de las células para ser utilizada. En el déficit hereditario de TC-II, la elevada concentración de Cbl circulante (unida a las cobalofilinas) no puede ser utilizada, y aparece una anemia megaloblástica neonatal o prenatal[9].

Las *cobalofilinas* son glucoproteínas de 60 kDa que se hallan bajo dos formas moleculares: transcobalamina I (TC-I) y transcobalamina III (TC-III). Ambas fracciones presentan una movilidad electroforética que las sitúa en la región de las globulinas alfa-1 y alfa-2, respectivamente, y aunque fijan la mayor parte de la Cbl circulante, no la transportan. Por ello su aclaramiento plasmático es muy lento y su déficit congénito no comporta ningún trastorno metabólico[10]. Su función precisa se desconoce, aunque es posible que intervengan en la reutilización de la Cbl vía ciclo enterohepático, o que eviten un posible efecto tóxico de los análogos de la vitamina B_{12} facilitando su catabolismo hepático y eliminación por las heces. También se les ha atribuido una función defensiva antibacteriana.

La TC-I, sintetizada preferentemente por los precursores granulomonocíticos[11,12] es la que presenta un mayor grado de saturación, mientras que la TC-III, sintetizada por los granulocitos neutrófilos, se halla poco saturada. Ello explica que en los síndromes mieloproliferativos crónicos (SMPC) con intensa leucocitosis neutrofílica exista un marcado aumento de las cobalofilinas circulantes, y una mayor capacidad del plasma para fijar la Cbl (CSCbl)[13]. El estudio de la Cbl y CSCbl del plasma pueden utilizarse como un criterio diferencial bioquímico entre leucemia mieloide crónica (LMC) y policitemia vera (PV), ya que mientras en la LMC predomina la TC I y el aumento de Cbl circulante va acompañado de un aumento de la CSCbl, en la PV predomina el aumento de TC III, y el aumento de la CSCbl va acompañado de una concentración normal de Cbl (tabla 7.3).

Metabolismo y utilización de la Cbl

La membrana celular posee un receptor específico para la TC-II (RTC-II), y el complejo TC-II-Cbl es internalizado mediante endocitosis con formación de una vacuola lisosómica en la que la TC-II es degradada. La Cbl liberada es activada mediante transformación en metil-cobalamina (metil-Cbl) y adenosil-cobalamina (ado-Cbl) que realizan su función en dos vías metabólicas fundamentales.

Bajo forma de *Metil-Cbl*, actúa como coenzima de la metionina sintetasa (MS), reacción en la que el 5' metiltetrahidrofolato (metil-THF) cede un grupo metilo a la homocisteína y se transforma en metionina (fig. 7.3). Esta reacción está acoplada a la transformación del metil-THF, forma circulante del folato, en THF o forma activa de folato (THF), cofactor indispensable para la síntesis del DNA. El déficit de Cbl, al bloquear esta reacción, impide la formación de metilén-THF y, con ello, la síntesis de DNA. Al mismo tiempo, al no poderse formar metionina, se produce un exceso de homocisteína que se elimina por la orina (homocisteinuria) y facilita el desarrollo de fenómenos trombóticos (trombofilia). Simultáneamente, y dado que la metionina es necesaria para la síntesis de la S-adenosilmetionina (SAM), metabolito que interviene en el mantenimiento de la mielina[14], el bloqueo de esta reacción podría explicar los trastornos neurológicos (desmielinización de los cordones nerviosos) que pueden observarse en el déficit de Cbl.

En la mitocondria, la Cbl, bajo forma de 5 desoxicobalamina (ado-Cbl) actúa como coenzima de la metilmalonil coenzima A mutasa, reacción en la que el ácido metilmalónico (metilmalonil-CoA), proveniente del metabolismo aminoacídico (ácido propiónico, metionina, leucina, isoleucina y valina), se transforma en ácido succínico (succinil-CoA) (fig. 7.3). En esta reacción contribuye a la reutilización del propionil-CoA procedente de la oxidación de los ácidos grasos (AG) y por tanto a la obtención de energía en forma de ATP para la célula. Cuando existe un déficit de Cbl, se produce un exceso de ácido metilmalónico que se elimina por la orina (aciduria metilmalónica) y

TABLA 7.3

Concentración de cobalamina en plasma en situación normal, leucemia mieloide crónica (LMC) y policitemia vera (PV)

	Cbl (ng/L)	CTSPC (ng/L)	TC-I (ng/L)	TC-II (ng/L)	TC-III (ng/L)
NORMAL	598 ± 324	1.264 ± 397	317 ± 86	1.375 ± 341	429 ± 195
LMC	**2.833 ± 1.200***	**5.698 ± 1.985***	**3.786 ± 1.842***	1.388 ± 531	939 ± 672
PV	980 ± 340	**4.323 ± 1.344***	684 ± 434	1.575 ± 423	**3.654 ± 1.383***

Cbl: cobalamina; CTSPC: capacidad total de saturación plasmática por Cbl.
*Valores significativamente aumentados.

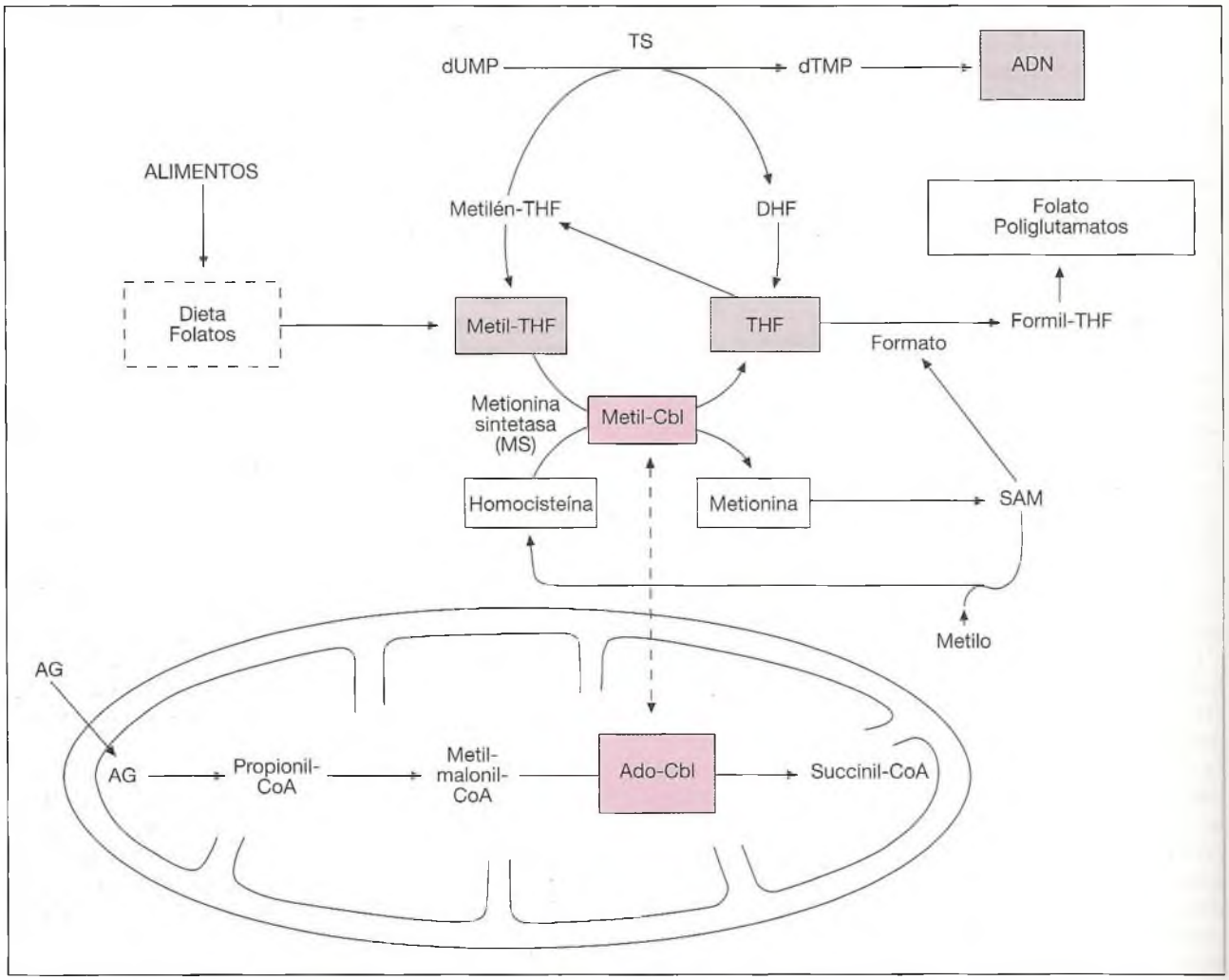


Figura 7.3. Metabolismo de la cobalamina (Cbl) y del folato. La Cbl interviene en la transformación del metil-tetrahidrofolato (metil-THF) en tetrahidrofolato (THF) que, en forma de metilén-THF, actúa directamente en la síntesis del DNA como coenzima de la enzima timidilato sintetasa (TS). La Cbl (metil-Cbl) actúa tambien en la transformación intramitocondrial del metil malonil CoA en succinil-CoA como coenzima de la metilmalonil CoA mutasa.
SAM: S-Adenosilmetionina; AG: ácidos grasos.

contribuye al desarrollo de la neuropatía que puede aparecer en el curso de la anemia por déficit de Cbl y en ciertos defectos congénitos del metabolismo de la Cbl.

Folato

El ácido fólico o pteroilglutámico (peso molecular: 441) siempre presenta en su forma salina, folato, y resulta de la unión entre el ácido pteroico y una o varias moléculas de ácido L-glutámico (fig. 7.4). Su forma activa es el tetrahidrofolato (THF) o éster del ácido fólico, resultado de la reducción de cuatro de sus carbonos. Debido a que el folato interviene en numerosas reacciones de transferencia de grupos monocarbonados intracelulares, éste puede hallarse bajo la forma de diversos derivados activos (tabla 7.4). En condiciones fisiológicas y en la naturaleza, sus formas más abundantes son las que poseen más de una molécula de ácido glutámico (poliglutamatos), de forma que en los alimentos, aproximadamente el 90% del folato se halla en forma de poliglutamatos (pteroilpoliglutamatos).

Los derivados activos del THF, a excepción del formil-THF (ácido folínico), nunca se hallan como tales fuera del organismo, por lo que el folato ingerido con los alimentos debe ser previamente reducido por el organismo a THF para poder ser utilizado[15]. Debido a que la mayor parte del folato sintetizado por las bacterias intestinales se elimina por las heces, la única fuente para el organismo humano es la dieta. Aunque puede hallarse en cualquier tipo de alimento incluidas las proteínas de origen animal (hígado y riñones), predomina en vegetales, especialmente verduras (espinacas, lechuga, coles) y fruta (plátanos, melones y limones) donde se halla siempre en forma de poliglutamatos.

Los requerimientos diarios de folato en un sujeto normal varían entre 50 y 100 µg pudiendo aumentar en determinadas situaciones fisiológicas, como el embarazo o la lactancia, hasta los 500 y 300 µg/día, respectivamente. Una dieta normal contiene entre 200 y 400 µg de folato pero, a diferencia de lo que ocurre con la cobalamina, se trata de un compuesto muy lábil y fácil-

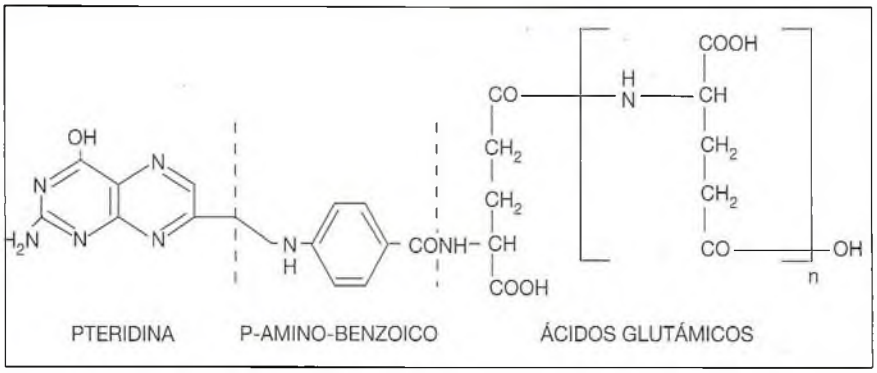


Figura 7.4. Estructura del ácido fólico.

TABLA 7.4

Formas activas de folato (ácido tetrahidrofólico)

Denominación	Grupo R
5,10-metilén-THF	$-CH_2-$
5,10-metenil-THF	$-CH=$
5-formimino-THF	HCNH
10-formil-THF	HCO
10-hidroximetil-THF	$HOCH_2$
5-metil-THF	CH_3

mente destruido por la temperatura. Por ello, el aprovechamiento del folato existente en una dieta es máximo sólo cuando los vegetales y verduras se toman frescos[16]. Al igual que la cobalamina, el principal reservorio de folato es el hígado, en la forma de pteroilglutamatos, aunque debido a su mayor consumo, la capacidad de reserva del organismo frente a una dieta totalmente desprovista de folato no suele ser superior a los tres meses. En parte, el folato se acumula también en el citoplasma de los eritroblastos, que lo conservan incluso después de su maduración a eritrocitos (la membrana eritrocitaria es impermeable al folato).

El folato circula por el plasma en forma de metil-THF, y en un individuo sano su concentración, determinada mediante el método microbiológico, varía entre 6 y 20 µg/L (9-41 mmol/L). La concentración de folato en los eritrocitos es mucho más elevada, y oscila entre 250 a 1.000 µg/L (375-1.800 mmol/L), y dado que este compuesto no puede atravesar la membrana eritrocitaria, constituye un reflejo de la reserva de folato del organismo y un índice más fidedigno que la concentración de folato sérico en el diagnóstico de hipofolatemia, ya que no se ve influido por factores circunstanciales diversos, como una hepatopatía crónica, efecto de un tratamiento, coexistencia de un déficit de cobalamina, etc., habituales en los medios hospitalarios. De acuerdo con estos valores de referencia, una concentración de folato en plasma inferior a 4 µg/L, y a 300 µg/L en eritrocitos, son indicativos de déficit.

Absorción

Durante los últimos años se ha puesto de relieve que el mecanismo de absorción del folato es más complejo, si cabe, que el de la absorción de Cbl. En los alimentos (vegetales), el ácido fólico (ácido pteroilglutámico) se halla en forma de glutamatos (pteroilpoliglutamatos) cuya absorción por la célula intestinal se realiza, en parte, previa hidrólisis a monoglutamatos por una conjugasa intestinal, la glutamato carboxipeptidasa o poliglutamato hidroxilasa, y en parte, reducidos a metil-THF por una reductasa, la dihidrofolato reductasa (DHFR). La mayor parte del folato ingerido (pteroilmonoglutamatos) penetra en la célula intestinal por difusión pasiva, tanto más intensa cuanto más elevada es la concentración intraluminal de monoglutamatos.

En el proceso de absorción están implicadas algunas proteínas de membrana del enterocito con capacidad para transportar el folato que, una vez absorbido, pasa al hígado y recircula por el organismo (ciclo enterohepático). Una de ellas es la proteína fijadora del folato (FBP), y otra, un transportador específico de folato reducido (RFC).

La absorción de folato puede verse modificada por la acción de sustancias diversas que pueden facilitarla o dificultarla. Cabe destacar que la leche humana contiene una proteína FBP que facilita su absorción durante la lactancia. En la edad adulta, el ascorbato (vitamina C) realiza una acción similar, facilitando la absorción intestinal de folato. Por el contrario, otros compuestos, como el etanol, la difenilhidantoína, la cicloserina, los barbitúricos y los anticonceptivos orales, pueden disminuir la absorción y ser causa de déficit de folato[17].

Ya en el interior de la célula, la enzima DHFR transforma todos los monoglutamatos en metil-THF, que pasa directamente a la circulación.

Transporte

En el plasma, la mayor parte del metil-THF circula libremente o fijado a la albúmina y una pequeña cantidad se halla fijado a la proteína fijadora de folato (FBP) circulante, que es una betaglobulina plasmática cuyo significado funcional es aún poco conocido. Recientemente, se han descrito varios grupos de proteínas o familias que pueden considerarse transportadores específicos del folato sanguíneo (tabla 7.5). Lamentablemente, se desconoce tanto el mecanismo íntimo de su actuación como su posible implicación en patología. El folato plasmático es captado por las células a través de dos mecanismos, uno mediado por proteínas transportadoras de folato reducido (TFR), y otro, más específico y mediado por recepto-

TABLA 7.5

Proteínas implicadas en el transporte de los folatos

	Tipos	Localización	Características	Defectos
Receptores				
FR/FBP/FOLR	α	11q13.3-q13.5	Alta afinidad	Defectos tubo neural (α)
	β	4 genes,	Especificidad tisular	Hiperhomocisteinemia (α y β)
	γ/γ'	7 exones	Esencial SNC	
			Forma soluble	
Transportadores	1	21q23.3	Baja afinidad	Incompatible con la vida
SLC19A	2	1q23.3	Especificidad tisular	Anemia megaloblástica tiamina-sensible
RFC	3	2q37	Alta capacidad	
			Proteínas transmembranosas	

res celulares de folato (RF) que concentran el folato en el interior de las células[1,18].

Los TFR son moléculas integrales de transporte iónico (*carriers*) que se hallan bajo dos formas moleculares: TFR tipo 1 y TFR tipo 2. El transportador tipo 1 (SLC19A1) se expresa preferentemente en células intestinales y hematopoyéticas, y su ausencia es incompatible con la vida. Su déficit parcial puede ir acompañado de alteraciones sanguíneas (aplasia medular) o inmunológicas (inmunodeficiencia), pero no de síntomas neurológicos. Existe una buena respuesta a la administración de altas dosis de folato no reducido. El transportador tipo 2 (SLC19A2) es una proteína integral implicada en el metabolismo de la vitamina B_1 (pirofosfato de tiamina), y su déficit es causa de una anemia megaloblástica sensible a la administración de tiamina. Esta forma de anemia megaloblástica sensible a la tiamina, se hereda con carácter autosómico recesivo, y cursa con sideroacresia (sideroblastosis en anillo), sordera neurosensorial y diabetes mellitus. Puede aparecer entre los 7 y los 20 años, y sólo responde a altas dosis de vitamina B_1. En los niños, el cuadro clínico es parecido al del déficit adquirido de vitamina B_1 (beri-beri), mientras que en los adultos predominan la cardiopatía y la neuropatía.

Los RF, más específicos, son de tres tipos: RFα (forma del adulto o tipo 1), RFβ (forma fetoplacentaria o tipo 2) y RFγ/γ' (tipo 3). Todos ellos son proteínas solubles que se hallan unidas a la membrana celular mediante un grupo glucosilfosfatidilinositol (GPI), y poseen una afinidad más elevada por las formas de folato no metilado. La FRα abunda en los plexos coroideos, túbulo renal y en los líquidos orgánicos (orina, leche materna, suero). Su presencia es fundamental en el metabolismo del sistema nervioso central (SNC), y el déficit puede asociarse a defectos del tubo neural; su ausencia es incompatible con la vida. El déficit de FRα va acompañado de un gran acúmulo de homocisteína (hiperhomocisteinemia), y el déficit de FRβ no produce anomalías neurológicas pero sí hiperhomocisteinemia. El excesivo aumento de homocisteína constituye un factor importante de riesgo trombótico o trombofilia[19].

Metabolismo y utilización del folato

Una vez en el interior de las células, el folato es transformado en poliglutamato, que al ser impermeable a la membrana queda retenido en el interior del citoplasma. El folato actúa en la síntesis del DNA y otras vías del metabolismo y, según el tipo de radical, se distinguen diferentes formas activas (tabla 7.4). El THF no metilado actúa en la vía del metabolismo unicarbonado, pero en la síntesis del DNA sólo intervienen formas metiladas. Las formas de folato activas más importantes son el 5,10 metilén-THF (metilén-THF) que interviene en la síntesis de la timidina, y el metil-THF (metil-THF) que interviene en la síntesis de la metionina a partir de la homocisteína.

En esta reacción, catalizada por la metionina sintetasa (MS o MTR), el metil-THF dona su grupo metilo a la homocisteína para formar la metionina y en ella actúa como cofator la metil-Cbl (fig. 7.3). El metilén-THF es la coenzima de la timidilato-sintetasa (TS), enzima que transforma la desoxiuridina monofosfato (dUMP) en desoxitimidina monofosfato (dTMP), imprescindible para la síntesis del DNA. La Cbl (metil-Cbl) al ser un cofactor necesario para la activación del folato (formación de THF a partir del metil-THF) resulta imprescindible para la síntesis del DNA y en su ausencia (déficit de Cbl) el metil-THF, al no poder transformarse en THF, queda atrapado en el plasma («trampa de metilo»)[20]. A su vez la metionina se transforma en S-adenosilmetionina (SAM) y ésta en S-adenosilhomocisteína (SAH), que puede reconvertirse en homocisteína. En el paso de SAM a SAH se genera un grupo metilo, que es usado por múltiples metiltransferasas implicadas en la síntesis de fosfolípidos, proteínas, mielina, catecolaminas, cratina, carnitina, DNA y RNA. Finalmente, la homocisteína en exceso es metabolizada a glutión mediante una reacción de transulfuración en la que intervienen la cistationina β-sintetasa (CBS), y su coenzima, el fosfato de piridoxal (vitamina B_6).

En el hígado, y en parte también en el riñón, existe otro sistema metabólico capaz de donar grupos metil a la homocisteína para formar metionina, que se basa en la transformación de betaína a dimetilglicina mediante una reacción catalizada por la betaína-homocisteína metiltransferasa. Estos últimos procesos de metilación se han implicado en la aparición de ciertos trastornos neurológicos (defectos del tubo neural), trombofilia, aumento del riesgo de accidentes cardiovasculares y desarrollo de neoplasias que pueden acompañar a defectos del metabolismo del ácido fólico, de la Cbl y también de la vitamina B_6[19,21].

ANEMIA MEGALOBLÁSTICA

Etiología

Las principales causas de la anemia megaloblástica se resumen en la tabla 7.6.

TABLA 7.6

Causas de anemia megaloblástica

I. DÉFICIT DE COBALAMINA
- **1. Dieta insuficiente**
  - Vegetarianismo estricto
  - Recién nacidos de madres deficitarias
- **2. Déficit de factor intrinseco (FI)**
  - Anemia perniciosa
    - Anemia perniciosa congénita o juvenil
    - Anemia perniciosa del adulto
  - Gastrectomía total o parcial
  - Ingesta de sustancias cáusticas (lejía)
- **3. Defecto funcional del factor intrínseco**
  - Alteración de la susceptibilidad al medio ácido
  - Pérdida de la afinidad por el receptor intestinal
- **4. Alteraciones de la luz del íleon (microambiente)**
  - Insuficiente actividad proteásica pancreática
    - Insuficiencia pancreática (pancreatitis crónica)
    - Inactivación de la enzima (síndrome de Zollinger-Ellison)
  - Competencia por la cobalamina
    - Por proliferación bacteriana
      - Estasis (síndrome del asa ciega, diverticulosis)
      - Disminución de la motilidad (esclerodermia)
      - Hipogammaglobulinemia
    - Por parásitos
      - *Diphylobotrium latum*
      - *Ankilostoma duodenale*
- **5. Alteraciones de la mucosa del íleo (receptores FI)**
  - Adquiridas
    - Resecciones quirúrgicas o derivaciones
    - Enteritis regional (enfermedad de Crohn)
    - Esprue tropical
    - Enfermedad celíaca
    - Tuberculosis
    - Infiltración linfomatosa
  - Inducidas por medicamentos
    - Antibióticos y antivíricos (PAS, neomicina, colchicina, AZT)
    - Antimitóticos (azatioprina, metotrexato, 5-fluorouracilo)
    - Anticomiciales (difenilhidantoína)
    - Anticonceptivos orales
  - Congénitas
    - Síndrome de Immerslund-Gräsbeck (déficit de cubilina)
- **6. Alteraciones del transportador (transcobalamina II)**
  - Déficit cogénito de transcobalamina II (TC-II)
  - Déficit funcional de TC-II (enfermedad de Cardeza)
- **7. Defectos de utilización de la vitamina B_{12}**
  - Déficit de metilmanonilCoA mutasa
  - Déficit de adoCobalamina
  - Déficit de cobalaminreductasa
  - Déficit de metilcobalamin metionina sintetasa
  - Déficit de metilcobalamin amino reductasa
- **8. Hemodiálisis**
- **9. Pérdidas urinarias (insuficiencia cardíaca congestiva)**

II. DÉFICIT DE FOLATO
- **1. Dieta insuficiente**
  - Desnutrición y caquexia (kwashiorkor y marasmo)
  - Dieta inadecuada o pobre en folatos
  - Etilismo crónico y cirrosis hepática
- **2. Hiperconsumo**
  - Embarazo
  - Prematuridad
  - Lactancia inadecuada
  - Síndromes hemolíticos crónicos
  - Síndromes mieloproliferativos crónicos
  - Procesos inflamatorios crónicos y neoplasias
  - Hipertiroidismo
  - Psoriasis (tratamiento con metotrexato)
- **3. Malabsorción**
  - Congénita
    - Déficit de conjugasa intestinal
    - Inducida por medicamentos
  - Anticonvulsivantes (difenilhidantoína, barbitúricos)
  - Anticonceptivos orales
  - Sulfasalacina
  - Colestiramina
    - Inducida por etanol (alcoholismo)
    - Por alteraciones de la mucosa intestinal
  - Esprue (tropical y no tropical)
  - Enteritis regional (enfermedad de Crohn)
    - Por resección quirúrgica amplia del intestino delgado
- **4. Defectos congénitos**
  - Déficit de metil-tetrahidrofolato transferasa (MTHFT)
  - Déficit de metil-tetrahidrofolato reductasa (MTHFR)
  - Déficit de dihidrofolato reductasa (DHFR)
  - Déficit de formiminotransferasa (FIT)
  - Déficit de cistationina-beta-sintasa (CBS)
  - Anemia megaloblástica sensible a la tiamina

III. DÉFICIT COMBINADO DE FOLATO Y COBALAMINA
1. Enfermedad celíaca
2. Enteritis regional (enfermedad de Crohn)

IV. TRASTORNOS CONGÉNITOS DE LA SÍNTESIS DEL DNA
- Oroticoaciduria
- Síndrome de Lesch-Nyhan

V. TRASTORNOS DE LA SÍNTESIS DEL DNA INDUCIDOS POR MEDICAMENTOS
1. Antagonistas del folato (antifólicos)
   - Metotrexato
   - Pirimetamina
   - Trimetoprima
   - Isocianato de pentamidina
   - Triamtereno
2. Antagonistas de la purina (antagonistas purínicos)
   - 6-Mercaptopurina
   - Tioguanina
3. Antagonistas de la pirimidina (antagonistas pirimidínicos)
   - Citosina arabinósido (citarabina)
   - 5-Fluorouracilo
4. Agentes alquilantes (ciclofosfamida)
5. Inhalación prolongada de óxido nitroso
6. Ingesta de arsénico
7. Ingesta de clordane

VI. ERITROLEUCEMIA (LAM6)

Las más frecuentes son las adquiridas, entre las que destacan la malabsorción, la malnutrición y el hiperconsumo. En el déficit de Cbl predomina la malabsorción, y en el de folato, la malnutrición y el hiperconsumo. Las causas hereditarias son excepcionales y aparecen durante el nacimiento o la primera infancia. El déficit congénito de folato puede obedecer a malabsorción congénita o a alteraciones del metabolismo celular.

Déficit de cobalamina

El déficit adquirido de Cbl es debido prácticamente siempre a malabsorción. La malnutrición es excepcional, y sólo se observa en el vegetarianismo estricto, debido a que la vitamina sólo se encuentra en los alimentos de origen animal. La malabsorción puede obedecer a un defecto del factor intrínseco (FI), en cuyo caso se denomina anemia perniciosa, a otras enfermedades diversas del aparato digestivo (gastrectomía, enfermedad celíaca y anomalías del receptor ileal) o a la ingesta de ciertos fármacos, especialmente el óxido nitroso, usado como anestésico. Ante un déficit de Cbl, el hígado, principal reservorio de la vitamina, tiene reservas para 3-5 años. El déficit congénito de Cbl es excepcional, y puede obedecer a alteraciones del transportador (transcobalamina II), del factor intrínseco (FI), del receptor ileal, o a defectos del metabolismo intracelular.

Anemia perniciosa

La causa más frecuente del déficit de cobalamina en la práctica clínica es la malabsorción, casi siempre debida a la falta de factor intrínseco (FI) secundaria a una alteración histológica y funcional de la mucosa gástrica conocida como *gastritis atrófica*. Por tradición, la anemia megaloblástica que aparece en el curso de la gastritis atrófica se conoce como *anemia perniciosa*, denominación histórica dada por Addison y Biermer en el año 1855 y que evidencia su mal pronóstico cuando aún no se conocía su causa[22]. Esta denominación se ha conservado hasta la actualidad para referirse de forma exclusiva al síndrome clínico que acompaña al déficit de FI. Aunque la forma habitual del mismo es adquirida, y secundaria a la gastritis atrófica, existe una forma hereditaria de carácter autosómico-recesiva (*anemia perniciosa congénita*) en la que la total ausencia de FI va acompañada de una mucosa gástrica estructuralmente normal. La anemia perniciosa congénita no debe confundirse con la *anemia megaloblástica congénita* debida a un déficit congénito de TC-II, ya que mientras ésta es de aparición neonatal, la primera aparece durante el primer o segundo año de la vida[23].

La gastritis atrófica es una enfermedad multifactorial, aunque con una base autoinmune bien demostrada y cierta predisposición genética. Aunque en un principio se la consideró prácticamente exclusiva de la raza blanca, especialmente de sujetos oriundos del Norte de Europa (escandinavos) y de EE.UU., el avance en los procedimientos para su detección precoz ha demostrado una incidencia también importante en sujetos del área mediterránea, orientales y africanos. Su característica más destacada es la inflamación y ulterior atrofia de la mucosa gástrica (cuerpo y antro), cuya progresión se realiza en tres etapas fundamentales: gastritis superficial, gastritis atrófica y atrofia gástrica. En las dos últimas etapas se produce una disminución progresiva del número de glándulas secretoras de la mucosa gástrica, con desaparición de la secreción de ácido clorhídrico (aquilia resistente a la histamina o pentagastrina), pepsina y, finalmente, factor intrínseco. La gastritis atrófica se caracteriza por su carácter crónico y la práctica ausencia de sintomatología específica, por lo que la anemia megaloblástica suele ser casi siempre su única manifestación clínica. Con todo, la aparición de anemia en el curso de esta enfermedad no es obligada, y es posible la existencia de gastritis atrófica sin anemia. La incidencia de gastritis atrófica aumenta con la edad, por lo que un elevado número de individuos, especialmente varones de edad superior a 60 años, son portadores de la misma, y su única manifestación es un descenso de la concentración plasmática de cobalamina. Si se acepta como límite inferior de la misma el valor de 340 ng/L, la frecuencia de individuos adultos con valores inferiores a dicho límite es superior al 40%[24,25]. La posibilidad de estudiar otros componentes plasmáticos o urinarios cuya concentración aumenta de manera muy sensible en el déficit de cobalamina, como el ácido metilmalónico (MMA) y la homocisteína (HCY), ha mostrado una elevada incidencia de formas subclínicas, cuya detección precoz permite iniciar el correspondiente tratamiento preventivo[26].

La anemia perniciosa es, por tanto, una enfermedad propia de sujetos adultos con edad superior a 60 años. En las poblaciones con mayor incidencia, se estima que entre 40 y 50 individuos de cada 100.000 son portadores de anemia perniciosa. Con menor frecuencia, puede observarse también una forma de anemia perniciosa que afecta a sujetos de edad comprendida entre 20 y 30 años, y que se conoce como *anemia perniciosa juvenil*.

La base autoinmune de la gastritis atrófica viene dada por la existencia de alteraciones de la inmunidad humoral, como la presencia en el plasma de autoanticuerpos contra las células parietales (antiparietales), factor intrínseco (anti-FI) y células tiroideas (antitiroideos). De ellos, los más frecuentes, pero poco específicos, son los anticuerpos antiparietales, ya que se observan, aproximadamente, en el 85% de los pacientes con anemia perniciosa. Por el contrario, los anticuerpos anti-FI, aunque se observan en un número menor de casos, tienen mayor valor diagnóstico ya que son más específicos. Junto a las alteraciones de la inmunidad humoral, en la anemia perniciosa también se han detectado alteraciones de la inmunidad celular o, incluso, coexistencia con otras enfermedades autoinmunes (tabla 7.7).

Patología gastrointestinal

Las alteraciones del aparato digestivo, no debidas a gastritis atrófica y que pueden dar lugar a anemia megaloblástica por déficit de Cbl son las resecciones quirúrgicas extensas, como la gastrectomía total, que elimina por completo las células secretoras de FI, o la resección del íleon, que puede ser causa de anemia megaloblástica por ausencia de absorción. Otros trastornos intestinales que pueden dar lugar a anemia megaloblástica por déficit de Cbl son todas aquellas situaciones caracterizadas por proliferaciones bacterianas que generan competencia con la célula intestinal en el consumo de cobalamina

TABLA 7.7

Asociación de anemia perniciosa a alteraciones de la inmunidad

ALTERACIONES DE LA INMUNIDAD HUMORAL
Autoanticuerpos anti-parietales
Autoanticuerpos anti-musculatura lisa
Autoanticuerpos anti-tiroideos
Autoanticuerpos anti-mitocondriales
Autoanticuerpos anti-factor intrínseco
ALTERACIONES DE LA INMUNIDAD CELULAR
Disminución de linfocitos T CD8+
ENFERMEDADES AUTOINMUNES
Tirotoxicosis
Tiroiditis de Hashimoto
Diabetes mellitus tipo I
Vitíligo
Enfermedad de Addison
Hipoparatiroidismo
Hipogammaglobulinemia
Colitis ulcerosa
Hipofisitis posparto
Lupus eritematoso sistémico (LES)
Colagenosis
Citopenias inmunes

(síndrome del asa ciega) o parasitosis. Tanto los parásitos intestinales como una excesiva proliferación bacteriana consumen rápidamente la Cbl ingerida con la dieta y reducen su absorción intestinal[27]. Asimismo, pueden tener un efecto similar las enteropatías que afectan al íleon, como la enteritis regional (enfermedad de Crohn), el esprue (enfermedad celíaca), la esteatorrea idiopática y ciertas lesiones provocadas por rayos X (déficit combinado de cobalamina y ácido fólico). La absorción de Cbl también puede hallarse dificultada en otros trastornos que alteran la composición del medio intestinal, como el síndrome de Zollinger-Ellison, las pancreopatías crónicas y la ingesta de fármacos o sustancias que interfieren en el proceso de absorción ileal (neomicina, colchicina, PAS, biguanidas y el etanol, principalmente).

Malnutrición

El déficit de cobalamina (Cbl) por falta de ingesta es excepcional, y sólo se observa en individuos sometidos a un régimen alimentario totalmente desprovisto de carne, huevos, leche y cualquier producto animal portador de Cbl. Por ello, este tipo de carencia sólo se observa en vegetarianos estrictos o en individuos depauperados por desnutrición extrema. También puede aparecer en ancianos malnutridos en los que la carencia de cobalamina suele asociarse al déficit de folato y, muchas veces, también de hierro (anemia carencial). Cabe destacar que en esta situación la utilidad de los índices eritrocitarios pierde gran parte de su valor, ya que los rasgos macrocíticos pueden quedar enmascarados por la microcitosis subyacente y observarse un VCM normal. La observación morfológica de una extensión de sangre suele mostrar una anisocitosis variable, con policromasia.

Efecto de medicamentos y otros compuestos

La administración de ciertos medicamentos, como el ácido peryódico de Schiff (PAS), antidiabéticos orales o colchicina, pueden ser causa de déficit de cobalamina por interferencias en su absorción o en su metabolismo. También dentro de este grupo puede considerarse el efecto del óxido nitroso empleado como anestésico en odontología. Este compuesto inhibe la metioninsintetasa, y puede dar lugar a trastornos neurológicos superponibles a los del déficit de cobalamina[28].

Defectos congénitos

Se reconocen tres tipos de trastornos congénitos del metabolismo de la Cbl: los defectos de la absorción, los defectos del transporte y los defectos de utilización. Los trastornos de la absorción y transporte de la vitamina B_{12} incluyen el déficit congénito de factor intrínseco (anemia perniciosa juvenil), de receptor ileal (síndrome de Imerslund-Gräsbeck), de TC-II y de HC[29]. Todos estos trastornos se caracterizan por su inicio neonatal y por la ausencia de respuesta a la administración terapéutica de factores vitamínicos (Cbl y folato, o ambos simultáneamente). El déficit congénito de transcobalamina II (TC-II) cursa con megaloblastosis neonatal de gran intensidad y, al afectar las tres series hematopoyéticas (anemia, leucopenia y plaquetopenia), puede ser fácilmente confundido con una leucemia aguda. El déficit congénito de TC-II sólo responde a dosis farmacológicas de Cbl, o de folato en su forma activa (ácido folínico), que, a diferencia del déficit carencial de Cbl, no va acompañado de efectos neurotóxicos[22,30].

Los trastornos de la utilización de la vitamina B_{12} son mucho más raros, y pueden obedecer a los siguientes defectos:

1. Defectos en la vía mitocondrial del ácido metilmalónico (la coenzima es la AdoCbl) acompañados de metilmalonilaciduria (MMA) y neuropatía sin anemia megaloblástica. Entre ellos se han descrito el déficit de AdoCbl que muestra una buena respuesta a la administración de Cbl, y el déficit de metilmalonil coenzima A mutasa (mut) que puede cursar como una enfermedad grave y mortal durante la primera infancia (mut^0) o menos grave (mut^-) de aparición más tardía y, generalmente, asintomática. Ninguna de estas formas responde al tratamiento con vitamina B_{12}.
2. Defectos de la vía de la metionina-homocisteína, con homocistinemia y homocistinuria. Estas formas clínicas obedecen a un déficit de metil-Cbl, cursan con anemia megaloblástica y alteraciones neurológicas y, en general, muestran una buena respuesta al tratamiento con hidroxicobalamina con o sin betaína[1].

Déficit de folato

El déficit de folato obedece, prácticamente siempre, a malnutrición. Un organismo normal consume cantidades de folato diez veces superiores a las de Cbl, y las reservas son escasas, de forma que si disminuye la ingesta o aumenta el consumo, la anemia megaloblástica puede desarrollarse en 3 o 4 meses. Además, el folato es un compuesto muy termolábil, es decir, que se destruye fácilmente por efecto del calor, por lo que gran parte (70-90%) del folato de los alimentos se destruye al condimentarlos. Se entiende, por

tanto, que en el desarrollo de un déficit de folato la falta de ingesta tenga mucha más importancia que la malabsorción. La malnutrición suele ir asociada a situaciones adversas como el alcoholismo y/o la indigencia, y es especialmente frecuente en ancianos que apenas ingieren alimentos o que se nutren con dietas desequilibradas

Junto a la malnutrición, otra causa relativamente frecuente de déficit de folato es el hiperconsumo, como sucede durante el embarazo, el crecimiento corporal o ciertas situaciones patológicas con aumento de regeneración celular (anemias hemolíticas, neoplasias). Finalmente, no debe olvidarse que ciertos fármacos pueden inhibir la absorción del folato (difenilhidantoína, sulfosalazina y anticonceptivos orales, entre otros) o alterar su metabolismo, como la administración de metotrexato o trimetroprima, que inhiben la dihidrofolato reductasa (DHFR).

Malnutrición

Un organismo adulto normal necesita entre 50 y 100 µg de folato al día, por lo que cuando la ingesta es inadecuada, las reservas se agotan muy rápidamente y la anemia megaloblástica puede aparecer en tres a cinco meses. Entre las causas de ingesta inadecuada destaca la desnutrición propia de las áreas más pobres del planeta, donde la ignorancia, las costumbres ancestrales y la miseria condicionan una alimentación rica en arroz y almidón pero muy escasa en carne y vegetales frescos. Con todo, el déficit carencial de folato no es exclusivo de estas áreas sino que también es propio de regiones desarrolladas. Así, en EE.UU. se ha demostrado que el 8-13% de la población presenta un déficit de folato eritrocitario sin anemia[24]. Ello obedece, fundamentalmente, a una alimentación inadecuada, ya sea porque no se ingieren los alimentos necesarios o porque la ingesta es escasa. Tal sucede en ancianos malnutridos, jóvenes sometidos a intensos regímenes de adelgazamiento, sujetos indigentes con alimentación pobre en folato y alcohólicos crónicos desnutridos. El déficit de folato afecta también a pacientes con enfermedades consuntivas (estados inflamatorios crónicos y neoplasias) en los que existe un aumento de los requerimientos, asociado muchas veces a un defecto de absorción.

Hiperconsumo

La segunda causa en frecuencia del déficit de folato es el hiperconsumo, y puede observarse tanto en situaciones fisiológicas como patológicas, destacando entre las primeras el embarazo y la lactancia.

Embarazo y lactancia. El déficit de folato es una constante durante el embarazo que puede verse agravada por diversas circunstancias, como la frecuencia de los mismos, la edad de la mujer o el mismo estado nutricional. Esto obedece a la combinación de una ingesta insuficiente con un importante aumento del consumo. Por ello, siempre es aconsejable la administración profiláctica de folato durante todo el embarazo, aunque de manera especial durante los últimos meses[31].

En los niños, el déficit de folato es constante en áreas con malnutrición endémica. En los países desarrollados obedece, fundamentalmente, a defectos en la alimentación, generalmente, por la ingesta de leche de cabra muy pobre en esta vitamina. La leche materna, y también la de vaca, contiene cantidades adecuadas incluso después de hervirla. Por el contrario, la leche de cabra o los sustitutos lácteos sin suplemento vitamínico presentan un nivel muy bajo de folato.

Recambio celular excesivo. Son situaciones patológicas de hiperconsumo de folatos el hipertiroidismo, las anemias hemolíticas de carácter crónico, las neoplasias y algunos síndromes mieloproliferativos crónicos. En todas estas situaciones, la intensa proliferación celular genera un consumo exagerado de folato y un rápido agotamiento de las reservas.

Malabsorción

A diferencia del déficit de cobalamina, la malabsorción constituye una causa infrecuente de déficit de folato. Así, se han descrito muy pocos casos de malabsorción congénita selectiva de ácido fólico, con retraso mental, convulsiones, síndrome atáxico-atetósico y, ocasionalmente, calcificaciones de los ganglios de la base[32,33]. Con mayor frecuencia, la folicopenia obedece a lesiones en el aparato digestivo, especialmente en la región duodeno-yeyunal, como las que acompañan al esprue tropical y a la enfermedad celíaca con intolerancia al gluten, en las que la anemia megaloblástica folicopénica suele asociarse con un déficit de cobalamina y también de hierro[2,27]. El esprue tropical es una enfermedad infecciosa de carácter endémico en muchas regiones del trópico (India, Sudeste Asiático, Indonesia y Filipinas), África y América Central. En general, el contagio de la enfermedad requiere estancias prolongadas en dichas áreas, aunque, a veces, ésta puede adquirirse en sólo unos pocos meses. En el esprue tropical, la administración oral de folato (5 mg/día) no sólo aumenta la concentración de hemoglobina en sangre (desaparición de la anemia) sino que también mejora los síntomas intestinales y generales de esta enfermedad (sensación de distensión abdominal, esteatorrea, astenia, anorexia y pérdida de peso). En nuestro medio existe una forma de esprue no tropical, de base hereditaria, conocida como enfermedad celíaca. Esta enfermedad afecta a niños y adultos jóvenes, y sus manifestaciones clínicas más destacadas son la esteatorrea acompañada de intolerancia al gluten (fracción proteica del grano de trigo rico en glutamina e insoluble en agua) y a ciertas proteínas relacionadas, como las gliadinas. El diagnóstico de la enfermedad celíaca requiere la práctica de una biopsia, pero es frecuente observar la presencia en el plasma de anticuerpos (IgG) contra la gliadina (anticuerpos antigliadina). Junto a ello, se aprecia un aumento de grasa fecal, defecto en la absorción intestinal de D-xilosa y alteraciones radiológicas características[34].

Otras causas de malabsorción de folato son la ingesta de medicamentos capaces de actuar sobre la mucosa del intestino y alterar la absorción de folato. Entre estos compuestos destacan los anticomiciales del tipo de la difenilhidantoína, y barbitúricos cuya ingesta puede reducir la concentración de folato en suero y eritrocitos en más del 50% de la concentración normal. Otros medicamentos capaces de ejercer acciones similares sobre la absorción del folato intestinal son los anovulatorios orales, la sulfasalazina en pacientes con enfermedades inflamatorias del

intestino delgado y la administración de colesteramina en pacientes con hipercolesterinemia.

Alcoholismo y cirrosis hepática

La anemia es una manifestación relativamente frecuente del alcoholismo crónico y su origen es, en general, multifactorial. Con todo, se ha demostrado que el 30-40% de los sujetos hospitalizados por alcoholismo en fase avanzada presentan anemia megaloblástica por déficit de folato. Ello explica la frecuente observación de macrocitosis en el alcoholismo crónico, a la que puede contribuir también la coexistencia de un mayor o menor grado de hepatopatía crónica con o sin cirrosis hepática[35]. La relación entre la ingesta de alcohol y el déficit de folato puede obedecer a diferentes causas. La más importante parece ser el estado de malnutrición, frecuente en los alcohólicos, aunque se ha descrito también un defecto hepático para mantener el metabolismo normal de la vitamina, un aumento de las pérdidas urinarias o la interferencia del alcohol en la absorción del folato. Algunos autores han descrito también un efecto directo del alcohol sobre las células hematopoyéticas, con aparición de sideroacresia transitoria, que desaparece con el estado de intoxicación. Otra prueba del efecto directo de la intoxicación alcohólica sobre la eritropoyesis es la vacuolización de los eritroblastos, presente en un porcentaje relativamente importante de pacientes alcohólicos con anemia (fig. 7.5).

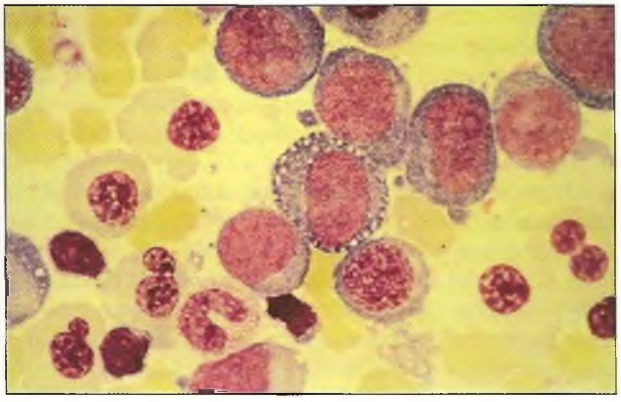


Figura 7.5. Eritroblasto intensamente vacuolizado en un paciente con intoxicación etílica aguda.

Administración de citostáticos

Especial mención merecen los trastornos metabólicos causantes de folicopenia en individuos tratados con citostáticos (aminopterina y metotrexato) o preparados diamídicos (isotianato de pentamidina, trimetoprima). Estos compuestos inhiben la dihidrofolatorreductasa, responsable de la conversión del dihidrofolato (DHF) en tetrahidrofolato (THF).

Defectos congénitos

Los folatos influyen en numerosas reacciones bioquímicas y, por tanto, pueden existir diferentes formas de defectos congénitos del metabolismo[29]:

1. La malabsorción hereditaria de folato es una anomalía rara que aparece los primeros días de la vida con neuropatía grave y anemia megaloblástica. Existe una malabsorción de los folatos reducidos y la proteína implicada afecta al transporte intestinal y a través de los plexos coroideos. Reponde a dosis elevadas de ácido fólico o a formas reducidas de folato vía parenteral o intratecal.
2. El déficit de conjugasa intestinal (mutación *H465Y*) impide la absorción de poliglutamatos y cursa con hiperhomocisteinemia intensa y trombofilia. Se han implicado también defectos del tubo neural.
3. El déficit de dihidrofolatorreductasa (DHFR) impide mantener concentraciones adecuadas de THF, y va acompañado de anemia megaloblástica neonatal grave, con neuropatía. No responde al folato, pero sí a sus formas reducidas (ácido folínico o formil-THF).
4. El déficit de metiltetrahidrofólico reductasa (MTHFR) es, con mayor preferencia, el más habitual de los defectos congénitos del ácido fólico. La MTHFR cataliza la transformación del 5-10' metilén-THF a 5' metil-THF, dador de grupos metilo para la síntesis de metionina. Se han descrito formas clínicas muy graves y de inicio durante la primera infancia, que se caracterizan por trastornos del desarrollo, neuropatía y enfermedad cardiovascular grave que es casi siempre la causa de muerte de estos enfermos. La anemia megaloblástica es una manifestación infrecuente. En el déficit de MTHFR existe un gran aumento de homocisteinemia en el plasma, lo que probablemente explica la gravedad del cuadro cardiovascular. Existen también formas más leves y de aparición tardía (entre los 10 y 30 años) que cursan con moderada clínica neurológica y trastornos vasculares. Por último, existen formas prácticamente asintomáticas cuya única manifestación es la hiperhomocisteinemia (677 C → T) o asintomáticas sin hiperhomocisteinemia (1298 A → C). Ambas situaciones suelen ir acompañadas de niveles de folato reducidos, por lo que el tratamiento consiste en administrar folato al objeto de mantener unos niveles de folato sérico próximos a 15,4 nmol/L y así evitar el aumento de la homocisteína en plasma y el riesgo cardiovascular.
5. El déficit de cistationina-beta-sintasa (CBS) obedece a un defecto en la transulfuración de la homocisteína que da lugar a homocisteinuria. Cursa con trastornos neurológicos, oftalmológicos y manifestaciones cardiovasculares, que suelen responder al tratamiento con fosfato de piridoxal (vitamina B_6).
6. El déficit de glutamato formiminotransferasa consiste en un defecto en la formación de 5-10' metilén-THF, por lo que va acompañado de anemia megaloblástica y neuropatía.
7. La anemia megaloblástica tiamina-sensible se caracteriza por anemia megaloblástica, diabetes mellitus y sordera neurosensorial. Obedece a la mutación de la proteína transportadora de folato tipo 2 (SCL19A2), y responde a la administración de vitamina B_1 (pirofosfato de tiamina).

Mecanismo no carencial

Fuera del déficit de factores madurativos, también pueden producir megaloblastosis ciertas anomalías que afectan a la síntesis de las purinas o pirimidinas. Entre ellas descan dos de interés clínico:

1. Oroticoaciduria congénita. Obedece a una alteración en la síntesis de las pirimidinas debida a un defecto en alguna de las enzimas que intervienen en ella, la orotatofosforribosil transferasa (OPRT) y la orotinin 5' monofosfato descarboxilasa (ODC), que da lugar a una anemia megaloblástica, trastornos mentales y aciduria orótica. Responde al tratamiento con uridina (1 a 1,5 g/d), pero no a la vitamina B_{12} o folato.
2. Síndrome de Lesch-Nyhan. Con herencia ligada al sexo, obedece a una anomalía en la hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa, lo que se traduce en anemia megaloblástica, retraso mental, coreoatetosis y automutilación. Responde al tratamiento con adenina (1,5 g/d).
3. Otras causas. Otros defectos congénitos del metabolismo relacionados con la anemia megaloblástica son el déficit de purina nucleósido fosforilasa, que puede cursar con anemia megaloblástica, y la hipersarcosinemia, que provoca trastornos neurológicos.

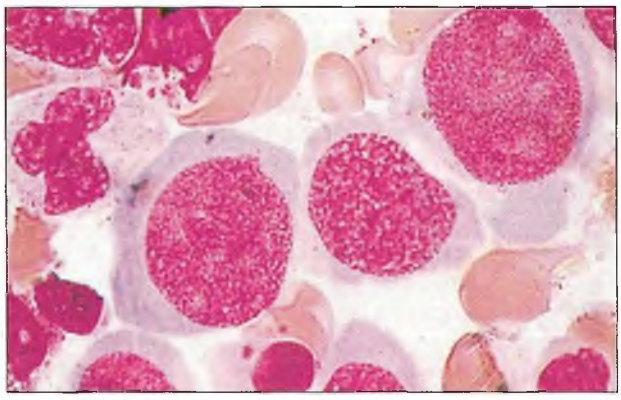


Figura 7.6. Megaloblastos en diferentes fases de maduración. Apréciese el característico aspecto «perlado» de la cromatina nuclear en la que se insinúan varios nucéolos. Arriba a la izquierda: dos metamielocitos gigantes. Médula ósea de paciente con anemia perniciosa. (MGG ×800 A.)

Fisiopatología

La causa de la anemia megaloblástica por déficit de factores de maduración obedece a alteraciones en la síntesis del DNA producidas por bloqueo de la transformación de dUMP en dTMP e incorporación de dUTP (d-uridina trifosfato) al DNA en lugar de dTTP. El exceso de dUTP es eliminado por la enzima DNA-uracilglucosilasa, y el mecanismo de reparación del DNA, al no poder hacer frente al exceso de alteraciones que genera este bloqueo, se fragmenta y condiciona una muerte celular prematura (apoptosis). Este aumento de la apoptosis puede ponerse de manifiesto fácilmente por el incremento de la p53 y de la p21 en los precursores de la hematopoyesis y en otras células del organismo con intenso recambio celular (piel y mucosas). Este trastorno tiene una repercusión morfológica característica: la megaloblastosis.

En la *hematopoyesis normal*, las células con capacidad de autoduplicarse se encuentran, la mayor parte del tiempo, en fase de reposo (G_0). Cuando se inicia la mitosis (S), doblan rápidamente su contenido en DNA, se dividen, y cada célula vuelve a la fase de reposo. En la *hematopoyesis megaloblástica*, el alargamiento de la fase S hace que siempre existan muchas más células intentando duplicar su contenido en DNA que en fase de reposo. Por ello, cuando se observan con el microscopio, muestran un tamaño celular superior al normal y una cromatina finamente reticulada, propia del retardo madurativo nuclear. Este fenómeno se conoce con el nombre de *megaloblastosis*, palabra de origen griego compuesta por «megalos» que significa grande y «blastos», inmaduro. Además, como este trastorno del DNA va acompañado de una síntesis normal de hemoglobina, los megaloblastos presentan el contenido hemoglobínico que corresponde a su etapa madurativa normal (asincronía madurativa nucleocitoplasmática). Estas células se denominan *megaloblastos*, y presentan un aspecto morfológico característico en el que destacan el gran tamaño y el aspecto «perlado» de la cromatina nuclear (fig. 7.6). Aunque la expresividad del trastorno megaloblástico afecta fundamentalmente a la serie eritropoyética, en mayor o menor grado existe también en los restantes precursores hematopoyéticos (precursores granulocíticos y megacariocíticos), lo que se pone de manifiesto por la aparición de mielocitos y metamielocitos de gran tamaño (metamielocitos gigantes), y por una intensa hiperploidía de los megacariocitos.

En los precursores eritroides, la megaloblastosis puede observarse en todos los estadios madurativos de la línea celular: promegaloblastos (E1), megaloblastos basófilos (E2), megaloblastos policromáticos grandes (E3), megaloblastos policromáticos pequeños (E4) y megaloblastos ortocromáticos (E5). Aunque, mediante citometría de flujo, se ha demostrado un descenso de la actividad mitótica en todas las etapas madurativas, ésta es especialmente intensa durante las etapas E2 y E3, lo que explica el predominio de eritroblastos y megaloblastos basófilos y policromáticos sobre los ortocromáticos[3]. Con todo, debe destacarse que la presencia de megaloblastos ortocromáticos es de gran ayuda diagnóstica, ya que dichas células presentan unas características morfológicas muy diferentes a las de los correspondientes eritroblastos normales con igual grado de maduración, es decir, un núcleo más grande de cromatina finamente reticulada y un abundante citoplasma relativamente bien hemoglobinizado[3].

La eritropoyesis megaloblástica supone que una proporción importante de eritroblastos no llega a alcanzar la madurez y muere en la propia médula (eritropoyesis ineficaz), y que los que alcanzan la fase de reticulocitos dan lugar a eritrocitos maduros de gran tamaño (macrocitos) y con alteraciones diversas que denotan el trastorno de maduración sufrido. Así, junto con la macrocitosis (VCM > 100 fL), rasgo morfológico característico de este trastorno, es frecuente observar también un grado variable de ovalocitosis (macroovalocitosis), presencia de inclusiones intraeritrocitarias (punteado basófilo, cuerpos de Howell-Jolly y anillos de Cabot), eritroblastos («eritrocitos nucleados») y neutrófilos con más de cinco lóbulos nucleares o hipersegmentados (pleocariocitos). La macroovalocitosis y la presencia de pleocariocitos son los dos criterios de sangre periférica más sugestivos de megaloblastosis medular (fig. 7.7).

La eritropoyesis ineficaz va acompañada de diversas *alteraciones bioquímicas* en el plasma, muy similares a

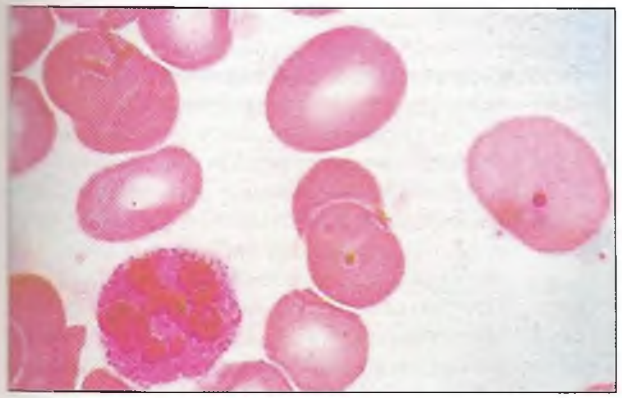


Figura 7.7. Frotis sanguíneo del paciente cuya médula ósea se muestra en la figura 7.6. Destacan las inclusiones intraeritrocitarias (cuerpos de Howell-Jolly) y de un polinuclear hipersegmentado (pleocariocito).

las que se observan en un proceso hemolítico como el aumento de la actividad lacticodeshidrogenasa (LDH) sérica y el de bilirrubina no conjugada. Estas alteraciones son expresión de la eritropoyesis ineficaz, pero también del descenso de la supervivencia de los macroovalocitos en la circulación o hemólisis. Finalmente, la anemia megaloblástica carencial también puede ir acompañada de alteraciones de células no hematopoyéticas con elevado recambio celular (piel, mucosas y epitelio gastrointestinal), con aparición de lesiones tróficas o inflamatorias de la piel y de las mucosas. La atrofia de la mucosa digestiva, especialmente en la zona en la que la absorción de Cbl es máxima (yeyuno e íleon), puede agravar el déficit por malabsorción sobreañadida. Por ello, en pacientes con anemia perniciosa, la administración parenteral del factor vitamínico, incluso en presencia de factor intrínseco, no suele ser eficaz hasta que se ha producido la regeneración de la mucosa después de una terapéutica previa con cobalamina.

Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas de la anemia megaloblástica son de dos tipos: unas de carácter general, y otras más específicas que dependen de diversas situaciones clínicas del paciente (formas clínicas).

Manifestaciones de carácter general

El paciente con anemia megaloblástica suele acudir a la consulta por un síndrome anémico de intensidad variable, cuya característica más destacada es el aumento del VCM. Dado que hoy día todos los equipos automáticos realizan sistemáticamente la medida del VCM, el diagnóstico puede realizarse precozmente, incluso antes de que se haya desarrollado el cuadro clínico completo. Por ello, rara vez se observan signos clínicos que denoten el origen carencial de la anemia, como lesiones tróficas, a veces ulceradas, de la mucosa de la comisura bucal (rágades) y mucosa lingual. La inflamación de la mucosa lingual, propia de las fases más avanzadas del déficit vitamínico se conoce con el nombre de *glositis atrófica* o de Hunter y se caracteriza por una pérdida de papilas gustativas (depapilación) y aumento de la sensibilidad dolorosa. Con todo, debe señalarse que, incluso en estos estadios iniciales de la enfermedad, la realización de una anamnesis y exploración física cuidadosas permiten, en la mayoría de los casos, establecer la orientación etiológica del proceso. La edad, el sexo y los hábitos alimentarios del paciente son de gran importancia para realizar la orientación diagnóstica, ya que en niños, individuos jóvenes y mujeres embarazadas, la causa más probable es el *déficit de folato*. Igualmente sucede en ancianos mal alimentados, alcohólicos crónicos o pacientes con trastornos de la función hepática (cirrosis), de la absorción intestinal (esprue) y enfermedades metabólicas (hipertiroidismo) o consuntivas (neoplasias). Cabe destacar aquí también la importancia de la posible ingesta de medicamentos capaces de disminuir la absorción del folato. Cuando la anemia megaloblástica aparece en pacientes de más de 40 años, sin problemas en la alimentación ni de otra índole, el diagnóstico más probable es de *anemia perniciosa*. Finalmente, la aparición de una anemia megaloblástica durante el período neonatal debe orientar el diagnóstico hacia una anemia perniciosa congénita (muy rara), un trastorno congénito de la absorción o metabolismo de la cobalamina o folato y el déficit de transcobalamina II (anemia megaloblástica congénita).

Formas clínicas de la anemia megaloblástica

Las diferentes formas clínicas de anemia megaloblástica se resumen en la tabla 7.8.

1. En la *forma clásica*, la anemia domina el cuadro clínico y es de tipo macrocítico. Puede coexistir con trombocitopenia y/o leucopenia, generalmente correlacionadas con el grado de anemia, y la medida de la Cbl y de los folatos séricos o del folato eritrocitario permiten establecer el diagnóstico. El déficit de Cbl suele asociarse con manifestaciones neurológicas, desde alteraciones de la sensibilidad hasta un síndrome cordonal posterior o demencia. El déficit de folato puede asociarse a neuropatía periférica. Asimismo, son frecuentes las alteraciones epiteliales de carácter trófico (lesiones dérmicas, glositis, etc.) más frecuentes en el déficit de Cbl.
2. Las *formas atípicas* son variantes de la anterior que no van acompañadas de anemia ni de macrocitosis. Ello se atribuye a que, en estos casos, el paciente es estudiado antes de desarrollar el cuadro clínico completo, en general por presentar leucopenia o trombocitopenia aisladas, clínica tromboembólica, patología autoinmune o neuropsiquiátrica o trastornos digestivos[36].
3. Las *formas mixtas* se caracterizan por un cuadro clínico enmascarado por la coexistencia de otros procesos causantes de anemia. Por ello, la megaloblastosis medular es poco manifiesta, y el diagnóstico se basa en la disminución del folato eritrocitario, de la Cbl sérica y en el estudio de la causa de la anemia que acompaña al déficit vitamínico. Cabe destacar que el 10% de las anemias megaloblásticas por déficit de Cbl van acompañadas de ferropenia, que puede enmascarar el diagnóstico[37].
4. La *megaloblastosis aguda* se caracteriza por la aparición de un cuadro de trombocitopenia y/o leucopenia intensas, cuya importancia clínica es superior a la de la anemia[38]. Tiene un origen multifactorial y dos características acompañantes: la existencia de un fac-

tor predisponente (disminución de depósitos por hiperconsumo o del aporte por malabsorción, desnutrición o enolismo), y la presencia de una alteración brusca del metabolismo por medicamentos (citostáticos) o circunstancias diversas capaces de alterar su metabolismo de forma aguda (administración de óxido nitroso, nutrición parenteral, diálisis o sepsis). En estos casos, el cuadro clínico se instaura de forma rápida (1-3 semanas) y se caracteriza por una trombocitopenia intensa (en general, < 20 x 10^9/L), leucopenia variable y anemia normocítica leve de carácter arregenerativo. Un signo morfológico constante es la presencia de neutrófilos hipersegmentados, y el aspirado medular muestra rasgos megaloblásticos en las tres series hematopoyéticas, con disminución de megacariocitos. En su forma más grave no es infrecuente la aparición de pancitopenia aguda y muerte por septicemia.

5. La *descompensación de una megaloblastosis crónica* muestra un cuadro clínico similar al de la megaloblastosis aguda. La consecuencia suele ser una pancitopenia de instauración rápida sobre un cuadro de megaloblastosis previa, con anemia macrocítica y déficit de factores a veces no diagnosticada ni tratada.
6. La *anemia perniciosa* puede cursar con una cualquiera de las formas clínicas antes descritas, aunque su historia clínica suele revelar aspectos diferenciales que pueden ayudar a realizar el diagnóstico[1,3,39]. Entre ellos, destacan los antecedentes personales (y, en ocasiones, también familiares) de anemia, la existencia de molestias digestivas y neurológicas que casi nunca poseen entidad suficiente para establecer el diagnóstico, y rasgos fenotípicos propios de un componente constitucional y/o de una enfermedad inmune. La expresión clínica más precoz de anemia perniciosa la constituyen tres síntomas: pérdida progresiva de la fuerza muscular, especialmente en las extremidades inferiores, lengua inflamada y dolorosa (glositis) y signos neurológicos consistentes en parestesias con signo de Babinski positivo. Las principales manifestaciones clínicas de la anemia perniciosa se resumen en la tabla 7.9. Una característica del déficit de cobalamina que no se da en el déficit de folato es la presencia de manifestaciones neurológicas debidas a una desmielinización progresiva de los cordones laterales y posteriores de la médula espinal con degeneración axónica (fig. 7.8). Por ello, el síndrome neurológico que acompaña a la anemia perniciosa se conoce también como *degeneración combinada subaguda* o *mielosis funicular*[40]. En casos muy avanzados, puede observarse una importante afectación de la sensibilidad profunda, con dificultad a la deambulación, la cual se hace inestable. Junto a ello aparecen también signos de espasticidad e hiperreflexia, con perturbaciones cerebrales de diferente índole, como alteraciones de la vista, pérdida de memoria, o cambios en la conducta, alucinaciones y, sobre todo, depresión, lo que justifica el término de «locura megaloblástica» que se atribuye a estos enfermos (tabla 7.10).

TABLA 7.9

Manifestaciones clínicas de la anemia perniciosa

Síndrome anémico	58%
Parestesias	13%
Trastornos gastrointestinales	11%
Dolor bucal o lingual	7%
Pérdida de peso	5%
Dificultad a la deambulación	3%
Otros	3%

En algunos casos, la exploración física muestra, junto con los signos propios de la anemia, ciertos rasgos fenotípicos peculiares que son de gran ayuda diagnóstica: alteraciones de la pigmentación cutánea (vitíligo o melanodermia), esplenomegalia (10-15% de casos), rasgos nórdicos (cabello rubio y ojos azules) y canicie

TABLA 7.8

Formas clínicas de la anemia megaloblástica

	Anemia perniciosa	Forma enmascarada	Forma descompensada	Anemia megaloblástica aguda	Forma atípica
Sangre periférica	Megaloblastosis Anemia macrocítica	Anemia microcítica o normocítica	Anemia macrocítica Trombopenia intensa	Trombopenia/ leucopenia grave	Normal
Factores de maduración	Disminuidos	Disminuidos	Disminuidos	Normales	Disminuidos o normales
Médula ósea	Megaloblastos	Megaloblastos	Megaloblastos	Megaloblastos	Megaloblastos
Homocisteína/ metilmalónico	Aumentada/Sí	Aumentada/Sí	Aumentada/Sí	Aumentada/Sí	Aumentada/Sí
Período	Meses-años	Variable	1-3 semanas	1-3 semanas	Meses-años
Causa añadida		Talasemia	Infección	Hepatopatía, tratamiento con triamtereno	Defectos del tubo neural, trombosis

TABLA 7.10

Manifestaciones neurológicas en la anemia perniciosa

Síntomas	Signos
1. Parestesias	Disminución de la sensibilidad superficial
2. Deambulación inestable	Disminución de la sensibilidad profunda
3. Incoordinación	Romberg positivo
4. Pérdida de fuerza muscular	Hiperreflexia
5. Espasticidad	Clonus Babinski

precoz. Algunos de estos rasgos, de carácter constitucional, señalan a la anemia perniciosa como una enfermedad especialmente frecuente en determinados grupos étnicos, especialmente del norte de Europa (escandinavos). Por ello, no es infrecuente observar la coexistencia en la anemia perniciosa de signos propios de ciertas enfermedades autoinmunes como, por ejemplo, hipotiroidismo o hipertiroidismo (tiroiditis de Hashimoto), insuficiencia corticosuprarrenal, diabetes mellitus, hipoparatiroidismo e hipogammaglobulinemia o conectivopatías como el lupus eritematoso. Finalmente, la presencia de equimosis puede ser también un dato exploratorio cuando la anemia megaloblástica coexiste con una intensa plaquetopenia (< 20 x 10^9/L).

Diagnóstico

Aunque el déficit de cobalamina o de folato tienen un mismo efecto sobre la hematopoyesis (disminución de la síntesis de DNA) y, por tanto, igual expresividad hematológica, el pronóstico y, por supuesto, el tratamiento son diferentes. Aunque el diagnóstico diferencial entre ambas carencias vitamínicas puede venir facilitado por el conocimiento de su fisiopatología y aspectos metabólicos, en la mayoría de casos, la información suministrada por la historia clínica (edad, hábitos alimentarios, coexistencia de alteraciones digestivas, inmunes o neurológicas [tabla 7.10]) y la exploración física son siempre de gran valor para establecer una primera orientación etiológica del proceso.

El diagnóstico de anemia megaloblástica exige cumplimentar tres etapas: confirmar el carácter megaloblástico de la anemia, conocer la vitamina deficiente y averiguar la causa del déficit vitamínico.

Confirmar el carácter megaloblástico de la anemia

Para ello son imprescindibles las siguientes exploraciones:

1. *Hemograma*. Constituye el primer paso en la confirmación diagnóstica de una anemia megaloblástica, al mostrar un aumento del VCM (macrocitosis) y, generalmente, también de la ADE (anisocitosis). La macrocitosis, si es elevada (VCM > 110 fL) es un dato de gran valor, especialmente si va acompañado de un recuento de reticulocitos normal o disminuido (anemia arregenerativa). Aunque la macrocitosis sin anemia (no megaloblástica) es una observación relativamente frecuente, no debe olvidarse que, a veces, su aparición puede preceder en meses a la de la anemia[41,42]. El número de leucocitos y/o de plaquetas no suele hallarse alterado, aunque puede darse algún caso con intensa granulopenia y/o plaquetopenia, que puede confundir el diagnóstico inicial con el de la aplasia medular.
2. *Reticulocitos*. El recuento de reticulocitos constituye aquí un criterio diagnóstico de gran valor ya que, mientras en la anemia megaloblástica suele hallarse normal o sólo ligeramente disminuido, en la aplasia medular se halla muy disminuido (< 1% corregidos) y en la anemia hemolítica, aumentado (> 100 x 10^9/L). En este caso, una intensa reticulocitosis puede ir acompañada de macrocitosis, debido al efecto sobre el VCM producido por los reticulocitos cuyo tamaño es superior al de los eritrocitos maduros.
3. *Examen morfológico de la sangre y médula ósea*. Aunque con los datos aportados por el hemograma automatizado puede realizarse el diagnóstico, un examen morfológico realizado en un frotis de calidad no sólo permite confirmar el carácter macrocítico de la anemia, sino también apreciar las peculiares alteraciones de la morfología eritrocitaria que acompa-

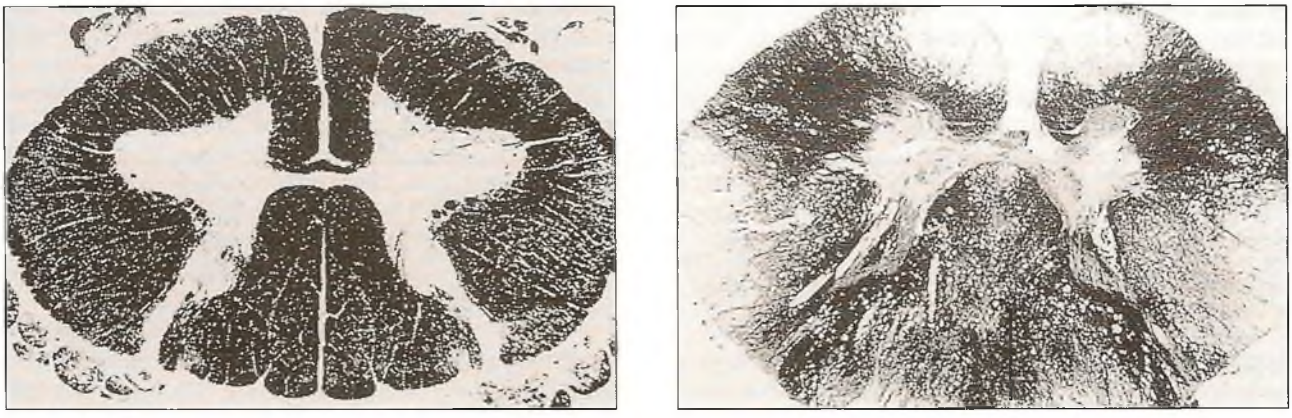


Figura 7.8. Corte histológico de médula espinal en un caso de anemia perniciosa y neuropatía grave (*derecha*) comparado con el de una médula normal (*izquierda*). Apréciese la marcada desmielinización de todos los cordones neuronales (anteriores, laterales y posteriores).

ñan al aumento de tamaño: ovalocitosis, dacriocitosis (poiquilocitosis), cuerpos de inclusión (Howell-Jolly, punteado basófilo, anillos de Cabot) y la eventual presencia de neutrófilos grandes e hipersegmentados o pleocariocitos (fig. 7.7).

4. Referente al *examen morfológico de la médula ósea, aunque con los datos del hemograma* y la determinación de las vitaminas en plasma puede realizarse el diagnóstico, resulta de gran utilidad siempre que existan dudas sobre el origen de la anemia carencial. Hay algunos trastornos de la hematopoyesis, como por ejemplo ciertos síndromes mielodisplásicos, que presentan un comportamiento clínico y biológico similar al de una anemia megaloblástica, y en caso de duda es cuando la realización de un examen morfológico de la médula ósea es imprescindible. En la anemia megaloblástica genuina se aprecia un marcado aumento de los precursores de la eritropoyesis que muestran signos morfológicos de bloqueo madurativo en todos sus estadios madurativos (fig. 7.6). Ocasionalmente también pueden observarse mielocitos y metamielocitos gigantes y megacariocitos de aspecto hiperploide.
5. *Pruebas bioquímicas en suero u orina*. El carácter ineficaz de la eritropoyesis motiva que en la anemia megaloblástica puedan observarse signos biológicos de hemólisis (intramedular y extramedular), como aumento de la concentración de bilirrubina no conjugada (indirecta o libre) y de la lacticodeshidrogenasa (LDH) sérica. Ocasionalmente, también puede observarse un descenso de la haptoglobina. El déficit de cobalamina, pero también el de folato, se acompaña de un aumento característico de la homocisteína (HCY) plasmática o sérica y también urinaria, cuya sensibilidad para detectar disminuciones subclínicas de folato y Cbl es superior a la cuantificación de las vitaminas en el plasma o suero[2,26]. En individuos adultos y de edad avanzada, el aumento de HCY secundario al déficit de folato o Cbl favorece la trombofilia y, por tanto, constituye un factor de riesgo cardiovascular, facilitando la aparición de trastornos tromboembólicos.

Combinando los datos aportados por el hemograma y el examen morfológico de sangre periférica y médula ósea pueden distinguirse tres grados de megaloblastosis con diferente intensidad:

1. *Megaloblastosis leve* (eritrocitos > 3,0 × 10^{12}/L), macrocitosis escasa (VCM: 100-105 fL), ausencia de granulocitos hipersegmentados y médula ósea con escasos rasgos morfológicos megaloblásticos (macroblastosis).
2. *Megaloblastosis moderada* (eritrocitos entre 2-3 × 10^{12}/L) con macroovalocitosis (VCM: 106-115 fL), más del 15% de neutrófilos hipersegmentados y plaquetopenia moderada. En la médula ósea existe hiperplasia eritroide, con rasgos megaloblásticos evidentes en las tres series hematopoyéticas.
3. *Megaloblastosis intensa* (eritrocitos < 2 × 10^{12}/L) con intensa macroovalocitosis (VCM > 116 fL), punteado basófilo, corpúsculos de Howell-Jolly, esquistocitos, pleocariocitos (neutrófilos hipersegmentados gigantes) y, ocasionalmente, leucopenia y trombopenia. En la médula ósea, intensa regeneración eritroblástica, con marcados signos morfológicos de megaloblastosis en las tres series hematopoyéticas.

Conocer la vitamina deficiente

La determinación de los niveles de cobalamina sérica y de folato sanguíneo (folato sérico y eritrocitario) es fundamental para conocer cuál es la vitamina deficiente. Los valores normales de ambos factores madurativos y sus variaciones patológicas en caso de déficit se representan en la tabla 7.11. Así, si la Cbl sérica se halla por debajo de 200 pmol/L, el diagnóstico de déficit de cobalamina es incuestionable, mientras que cuando la folatemia es inferior a 5 µg/L y el folato eritrocitario a 100 ng/mL, puede asegurarse que existe déficit de folato. Con todo, debe recordarse que una carencia de folatos puede, en su inicio, cursar de forma exclusiva con descenso del folato sérico y normalidad del intraeritrocitario, y que un déficit de cobalamina (Cbl) suele ir asociado con un contenido bajo en folato eritrocitario. Otro de los factores que pueden dificultar la interpretación de los resultados es la existencia de cifras elevadas de reticulocitos, por cuanto su contenido en folato es muy superior al de los eritrocitos. Cuando disminuyen simultáneamente la Cbl y el folato sanguíneos, puede pensarse en la existencia de un trastorno en la absorción, por el propio déficit sobre la mucosa intestinal del otro factor. Es interesante señalar que aproximadamente el 60% de los

TABLA 7.11

Cobalamina y folato en condiciones normales y en situación de carencia vitamínica

	Cbl sérica (pg/mL)	Folato sérico (ng/mL)	Folato eritrocitario (ng/mL)
Normal	200-900	5-30	150-800
Déficit de cobalamina	< 200	N o > 30*	< 150
Déficit de folato	N o < 200**	< 5	< 100
Déficit de ambos factores	< 100	< 3	< 150

Cbl: cobalamina (vitamina B_{12}).
*Aumentado en el 25% de los casos.
**Disminuido en el 50% de los casos.

pacientes con déficit de folato y el 40% de los que padecen déficit de cobalamina presentan ferropenia. Dado que la eritropoyesis megaloblástica origina un excedente de hierro no utilizado, debería existir un patrón biológico de sobrecarga férrica, hecho que rara vez se observa debido precisamente a la coexistencia de ferropenia[44].

Para la determinación de ambos factores madurativos se recomienda el empleo de métodos microbiológicos, ya que son los que ofrecen mayores garantías y presentan menos falsos positivos o negativos[45,46]. Los procedimientos isotópicos basados en la dilución isotópica o radioinmunoanálisis (RIA) han permitido la estandarización de *kits* comerciales de más fácil y rápido empleo en la práctica clínica. No obstante, la frecuente constatación de falsos positivos o negativos es aún más frecuente de lo que sería de desear. Así, por lo que respeta a la determinación de cobalamina sérica mediante RIA, ésta se realiza en realidad sobre una mezcla de Cbl y haptocorrinas (análogos de la Cbl), cuya cuantificación varía según la naturaleza de los ligandos empleados en el ensayo isotópico. Por ello, la posibilidad de que la determinación de cobalamina pueda venir enmascarada por los factores citados y de que en caso de déficit puedan obtenerse valores dentro de la normalidad, hace necesaria la búsqueda de métodos alternativos más fiables y menos engorrosos que los microbiológicos, sólo al alcance de laboratorios especializados.

Referente al folato sérico y eritrocitario, especialmente este último, el método microbiológico continúa siendo más fiable que el de RIA. La determinación del folato eritrocitario tiene la ventaja sobre el folato sérico de que no está influido por las fluctuaciones diarias debidas a la propia dieta, o a otros factores que suelen ser relativamente importantes en ambientes hospitalarios. Así, una hiperfolatemia o hipofolatemia puede ser la expresión de una postingesta o de un ayuno, sin que ello tenga que ver con un déficit real de las reservas. Por el contrario, el folato eritrocitario se mantiene constante durante mucho tiempo, y por ello es un índice mucho más preciso del nivel de las reservas, de forma que permite detectar una folicopenia incluso cuando ya se ha iniciado la administración terapéutica de ácido fólico. Mediante el estudio de los factores madurativos puede llegar a establecerse, en la gran mayoría de casos, el diagnóstico etiológico de la anemia megaloblástica. Si se trata de un déficit de folato, las exploraciones ulteriores a que debe someterse el paciente deben ir dirigidas a averiguar la causa o causas que han contribuido a su desarrollo y, de esta forma, aplicar las oportunas medidas terapéuticas. Para ello, nuevamente, una adecuada valoración de los aspectos clínicos constituye el criterio fundamental. Si se trata de un déficit de Cbl, lo más probable es que éste responda a una falta de factor intrínseco (anemia perniciosa), por lo que hay que realizar todas las exploraciones necesarias que permitan confirmarlo o, en último caso, descartar esta posibilidad.

Averiguar la causa del déficit vitamínico

Consiste en determinar, mediante diferentes pruebas complementarias, la causa o etiología del déficit vitamínico.

Ante el hallazgo de un déficit de Cbl es muy importante conocer si éste obedece a un déficit de factor intrínseco (anemia perniciosa) o a otra causa, ya que de ello depende la terapéutica y el seguimiento ulterior del paciente. Las pruebas diagnósticas de anemia perniciosa son, fundamentalmente, tres: prueba de la absorción de la cobalamina (prueba de Schilling), pruebas diagnósticas de anemia perniciosa, y otras pruebas de malabsorción.

Pruebas de la absorción de cobalamina

Las pruebas destinadas a demostrar la absorción de cobalamina en presencia o ausencia de factor intrínseco (FI) son las más fiables en el diagnóstico de la anemia perniciosa, ya que pueden emplearse con seguridad incluso en ausencia de sintomatología clínica[47,48]. Ello tiene gran valor si se tiene presente la elevada frecuencia con que los pacientes afectados de «anemia» reciben extractos hepáticos y hematínicos, en general antes de averiguar su origen. Estas medicaciones, administradas casi siempre de forma rutinaria son, por sí solas, capaces de enmascarar la sintomatología hematológica (médula y sangre periférica) de la anemia perniciosa, dificultando con ello la interpretación de las pruebas más elementales para el diagnóstico. No alteran, sin embargo, las pruebas de la absorción de la cianocobalamina, que quedan como único recurso válido para confirmar el diagnóstico[49].

Para estudiar la malabsorción de la vitamina B_{12} puede realizarse una serie de pruebas basadas todas ellas en la administración de vitamina B_{12} marcada isotópicamente, y valorar su absorción mediante la recuperación del isótopo en la orina (fig. 7.9). Esta prueba, conocida con el nombre de prueba de Schilling, consiste en cuantificar la excreción urinaria de cianocobalamina (vitamina B_{12}) marcada con cobalto-58 (^{58}Co) ingerida por vía oral (1 µg con una radiactividad de 0,5 µC) previa saturación del transportador (TC-II) mediante inyección intramuscular de 1.000 µg de cianocobalamina no marcada. La orina que se emite durante las 24 horas siguientes a la toma de cianocobalamina marcada contiene, en condiciones normales, más del 5% de la dosis administrada, mientras que los pacientes con malabsorción apenas eliminan el 2%. Una vez realizada esta primera parte, se vuelve a administrar vitamina B_{12} marcada junto con factor intrínseco (FI), y se valora la diferencia con la primera fase (tabla 7.12). Existen varias modalidades técnicas de la prueba de Schilling que permiten reconocer diferentes formas de malabsorción:

1. *Malabsorción por déficit de factor intrínseco* (gástrica), cuando hay malabsorción de vitamina B_{12} que se corrige al añadir factor intrínseco. Esta prueba es positiva en la anemia perniciosa genuina, y también en caso de gastrectomía.
2. *Malabsorción por causa intestinal.* Cuando hay malabsorción y no se corrige al añadir factor intrínseco, la causa es intestinal, como en el caso de la enfermedad celíaca (esprue no tropical o intolerancia al gluten), enfermedades pancreáticas, sobreinfección bacteriana, zoonosis, etc. En caso de sobrecrecimiento bacteriano, un tratamiento antibiótico normaliza la prueba. En caso de enfermedad del páncreas, hay dos opciones: repetir la prueba administrando enzimas pancreáticas, o usando una vitamina B_{12} marcada unida a factor intrínseco y vitamina B_{12} marcada con otro isótopo unida a HC.

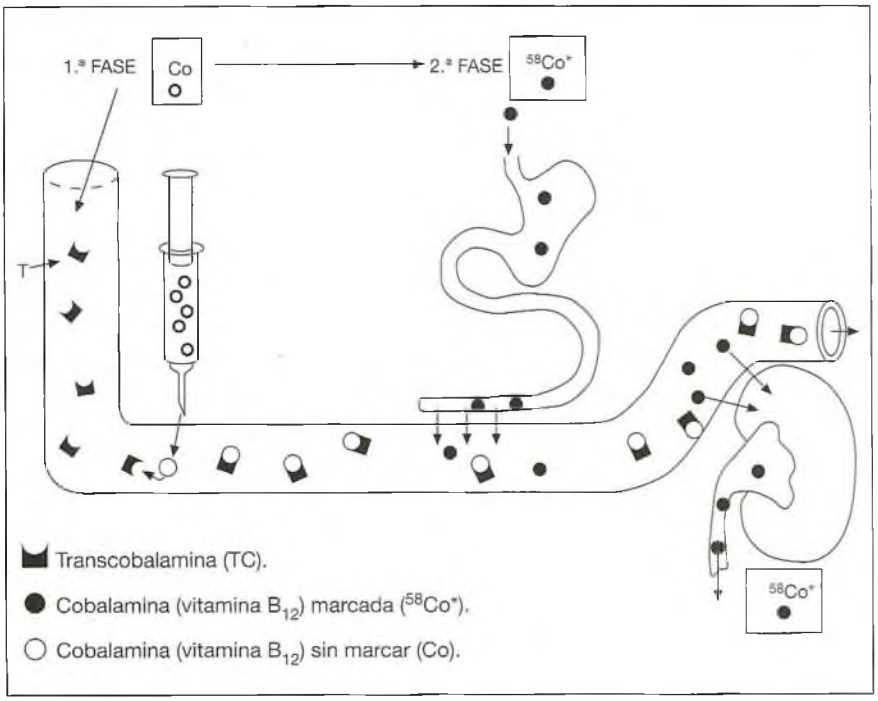


Figura 7.9. Esquema de la prueba de absorción de la vitamina B_{12} (prueba de Schilling). Para la explicación, véase el texto.

TABLA 7.12

Prueba de absorción de la vitamina B_{12} (prueba de Schilling)

	Excreción urinaria*	
	B_{12}	B_{12} + FI
Normal	9-36	–
Anemia perniciosa	0-1,5	6-35
Esteatorrea idiopática	0-19	0-15

*Administración oral de 0,5 µg de cobalamina marcada, y determinación de la radiactividad urinaria (cpm) a las 24-72 horas. FI: factor intrínseco.

3. *Malabsorción de vitamina B_{12} unida a proteínas.* En esta prueba, la vitamina B_{12} cristalina (cianocobalamina) se absorbe normalmente, pero no lo hace la vitamina B_{12} unida a proteínas (proteínas del huevo o del suero).
4. *Prueba dual (Dicopac).* Utiliza vitamina B_{12} marcada con dos isótopos (^{57}Co y ^{58}Co) una libre y otra unida a factor intrínseco. Se mide la eliminación de ambos isótopos por la orina, y se calcula el cociente, que en condiciones normales debe ser 1. El problema de esta prueba es que puede haber un intercambio entre los isótopos que puede falsear el resultado. Pese a ello, es muy empleada en la actualidad.
5. *Prueba no isotópica.* Consiste en valorar la concentración de vitamina B_{12} en suero después de una administración de vitamina oral con o sin FI.

Dado que la carencia de cobalamina puede alterar la mucosa intestinal y disminuir así su propia absorción, a veces es útil efectuar la prueba «en tres tiempos», es decir, repitiéndola después de un período de tratamiento vitamínico previo. La aparición de contadores gamma de dos canales capaces de discriminar la radiactividad emitida por diferentes isótopos ha permitido simplificar la prueba a dos tiempos, administrando conjuntamente cianocobalamina marcada con ^{58}Co y con ^{60}Co (^{57}Co) junto a FI (el ^{57}Co tiene menor intensidad radiactiva).

La prueba de Schilling permite realizar también, en muchos casos, el diagnóstico a través de la crisis reticulocitaria y el aumento de la hemoglobina que se produce después de la administración oral y parenteral de la vitamina, aumento que se conoce como efecto terapéutico de la prueba de Schilling.

Si mediante las pruebas de absorción se llega a la conclusión de que la malabsorción de Cbl es secundaria a otras enfermedades del aparato digestivo, deben realizarse las pruebas necesarias para esclarecer su etiología: examen radiológico del aparato digestivo, análisis de grasa en heces, prueba de la absorción de D-xilosa, práctica de biopsia yeyunal o examen de las heces en busca de parásitos. Finalmente, no debe olvidarse que una infiltración linfomatosa del intestino delgado también puede ser causa de déficit de folato o de cobalamina, y que ante una clínica compatible debe ser convenientemente investigada.

Pruebas diagnósticas de anemia perniciosa

En caso de que las pruebas de absorción sean compatibles con malabsorción de Cbl por déficit de FI (anemia perniciosa), debe confirmarse el diagnóstico mediante un conjunto de pruebas complementarias que incluyen el análisis del jugo gástrico mediante cuantificación del factor intrínseco con quimismo gástrico, y determinación de anticuerpos anti-FI y anti-célula parietal gástrica circulantes. Si estas pruebas son compatibles, en la última etapa se practica una endoscopia y biopsia gástrica, al objeto de demostrar las lesiones histológicas caracte-

rísticas de la gastritis atrófica con o sin metaplasia intestinal, o la posible existencia de un carcinoma gástrico.

1. El *análisis del jugo gástrico* tiene como objeto demostrar la aclorhidria resistente al efecto de la histamina o pentagastrina, y constituye una prueba fundamental en el diagnóstico de la anemia perniciosa. En este caso, es positiva en el 100% de los casos, y consiste en el hallazgo de una aquilia gástrica resistente a la pentagastrina con disminución o ausencia total de factor intrínseco (< 400 µ/hora). Cabe señalar, no obstante, que estas pruebas pueden ser también positivas en el 25%, aproximadamente, de pacientes con esprue (esteatorrea idiopática e intolerancia al gluten). A partir del jugo gástrico puede determinarse el contenido en FI y su grado de secreción en presencia de histamina o pentagastrina. En la anemia perniciosa es característica la práctica ausencia de FI del jugo gástrico, y su secreción no se estimula en presencia de los factores citados.
2. El hallazgo de *anticuerpos anti-FI y anti-mucosa gástrica circulantes* en el plasma constituye la prueba de mayor valor en el diagnóstico en la anemia perniciosa, ya que su demostración es altamente específica de gastritis atrófica. Los primeros son específicos de la anemia perniciosa, mientras que los segundos lo son mucho menos, y pueden aparecer tanto en personas sanas como en las afectadas de enfermedades diversas. Los anticuerpos anti-FI son de tipo IgG, muy específicos, pero, por desgracia, sólo se detectan en algo más de la mitad de los casos de anemia perniciosa. Pueden ser de dos tipos: bloqueantes, que impiden la unión del FI a la Cbl (anticuerpos tipo I), y precipitantes o fijadores que inactivan el FI o el complejo Cbl-FI, impidiendo su unión al receptor de membrana específico situado en las células de la mucosa intestinal (anticuerpos tipo II). Los anticuerpos anti-FI de mayor valor diagnóstico (positivos en el 55-70% de casos) son los de tipo I, ya que su presencia es excepcional en otras enfermedades autoinmunes distintas a la gastritis atrófica (elevada especificidad). De hecho, la presencia de estos anticuerpos puede detectarse mucho tiempo antes del desarrollo de la anemia perniciosa, por lo que en determinados individuos con predisposición genética, su determinación puede tener valor predictivo, ya que permite predecir el desarrollo futuro de la enfermedad. Los anticuerpos anti-FI tipo II son más sensibles pero mucho menos específicos, ya que suelen observarse también en muchas otras enfermedades de origen inmune. En definitiva, el hallazgo de anticuerpos anti-FI en personas con déficit demostrado de cobalamina constituye una prueba diagnóstica de máximo valor y, de hecho, hace innecesario practicar la prueba de Schilling.
   Los anticuerpos contra la mucosa gástrica (antiparietales y antimucosa gástrica) son mucho más frecuentes (> 80% de casos), pero menos específicos que los dirigidos contra el FI, ya que suelen aparecer en otras enfermedades inmunes diferentes a la gastritis atrófica. Igual sucede con otros tipos de autoanticuerpos (antitiroideos, antimusculatura lisa, etc.) que también pueden observarse en la anemia perniciosa, pero cuyo valor diagnóstico es muy inferior, ya que resultan positivos en un elevado porcentaje de enfermedades inmunes. Por ello, su valoración debe realizarse siempre en el contexto global de las restantes exploraciones clínicas y biológicas[49,50].
3. La *confirmación histológica de gastritis atrófica* mediante fibrogastroscopia y biopsia gástrica pone de manifiesto la existencia de lesiones atróficas de la mucosa gástrica ya apreciables al examen macroscópico de la mucosa. La biopsia y el examen histológico revelarán una ausencia prácticamente absoluta de células principales y parietales con focos de infiltración linfocitaria y áreas de mucosa pilórica e intestinal (fig. 7.10). Esta imagen histológica es de gran valor diagnóstico, ya que el hallazgo de células principales y parietales intactas permite excluir el diagnóstico de anemia perniciosa genuina.

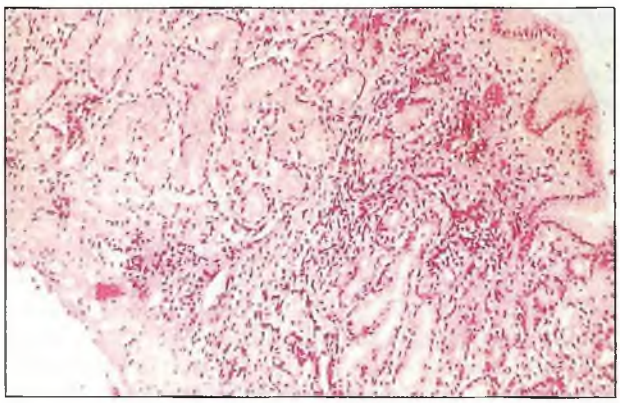


Figura 7.10. Imagen histológica de la mucosa gástrica en un caso de anemia perniciosa secundaria a gastritis atrófica. Junto a la desaparición de la estructura normal de las vellosidades, destaca una intensa infiltración linfoide.

La valoración etiológica del déficit de folato suele ser más sencilla que en el caso de la vitamina B_{12}, la historia dietética es fundamental, junto con la ingesta de alcohol y medicamentos. La prueba de absorción de folato es de muy poca utilidad, excepto en los casos con la rarísima malabsorción congénita de folato. La biopsia duodenal es importante en los casos en que se sospeche una enfermedad celíaca (suele ir acompañada de otras carencias). Por último, la historia clínica revelará una enfermedad subyacente que causa el déficit de folato.

Tratamiento

En el tratamiento de la macrocitosis megaloblástica existen un conjunto de normas generales que deben seguirse:

1. No administrar nunca ácido fólico hasta demostrar el tipo de déficit vitamínico implicado. En caso de déficit de Cbl, la administración de folato puede ser muy perjudicial, ya que puede agravar la neuropatía.
2. La Cbl debe administrarse siempre por vía parenteral.
3. La homocisteinemia aislada debe ser tratada siempre, incluso en el caso de que no exista anemia ni macrocitosis.

4. La pauta terapéutica debe ajustarse a la concentración de la vitamina deficiente y, si es necesario, implantar un tratamiento de mantenimiento sustitutivo realizándose un control cada seis meses o cada año.
5. El tratamiento debe persistir hasta la desaparición de las manifestaciones clínicas o biológicas del déficit. En caso de que exista una causa que obligue a implantar un tratamiento sustitutivo deben realizarse controles periódicos más frecuentes.

Déficit de cobalamina

Consiste en la administración terapéutica de Cbl con los siguientes objetivos: *a*) corregir la anemia y las posibles alteraciones epiteliales; *b*) reducir los trastornos neurológicos o prevenir su aparición, y *c*) normalizar los depósitos de Cbl del organismo.

Para ello, existen preparados de cobalamina comerciales que contienen cianocobalamina o hidroxicobalamina que, aunque no son formas fisiológicas, se transforman en el derivado activo una vez se encuentran en el organismo. La administración debe realizarse por vía parenteral, mediante una primera dosis de 1 mg intramuscular cada semana, durante 4-6 semanas (total: 4-6 mg), y en caso necesario, una dosis de mantenimiento de 1 mg cada 3 meses. Mediante la primera dosis, se restituyen los depósitos y se corrige la anemia. Con la segunda, se mantiene esta situación durante el tiempo que sea necesario, según la naturaleza de la enfermedad que ha provocado el déficit de Cbl. La eficacia del tratamiento se controla mediante la cifra de reticulocitos, que inicia un ascenso a partir del segundo o tercer día de empezar con la administración de Cbl y alcanza su valor máximo hacia el décimo día (respuesta reticulocitaria). A partir de este momento, la cifra de reticulocitos inicia un lento descenso, hasta que se normaliza por completo a los 20 días de tratamiento (fig. 7.11). La reticulocitosis va acompañada de una progresiva elevación de la hemoglobina, hasta que se normaliza del todo a las 4-6 semanas de iniciar el tratamiento. Igualmente, en este tiempo se normalizan, caso de hallarse alteradas, las cifras de leucocitos y plaquetas, apreciándose a veces un corto período de leucocitosis o trombocitosis, con desviación a la izquierda y eosinofilia.

Si existe neuropatía manifiesta (mielosis funicular) ha de seguirse su evolución y mantener el tratamiento semanal (o dos veces a la semana) hasta que mejore el cuadro neurológico (puede prolongarse 6 meses o un año). La mielosis funicular puede mejorar, pero pocas veces desaparece del todo la sintomatología, aunque se han observado respuestas prolongadas.

En caso de intolerancia a la vitamina B_{12} (alergia, alteraciones visuales o digestivas, erupciones cutáneas y otras) debe usarse hidroxicobalamina a la misma dosis. Si no puede administrarse por vía intramuscular puede recurrirse a la vía intravenosa (2 mg de cianocobalamina diluida, en gota a gota) o a la vía oral en dosis farmacológicas.

En la anemia perniciosa, la administración de cobalamina corrige por completo las alteraciones hematológicas, pero no produce efecto alguno sobre la gastritis atrófica. Su pronóstico, por tanto, se halla íntimamente ligado al de la gastritis atrófica. Así, se ha demostrado que el 5-10% de pacientes de sexo masculino afectados

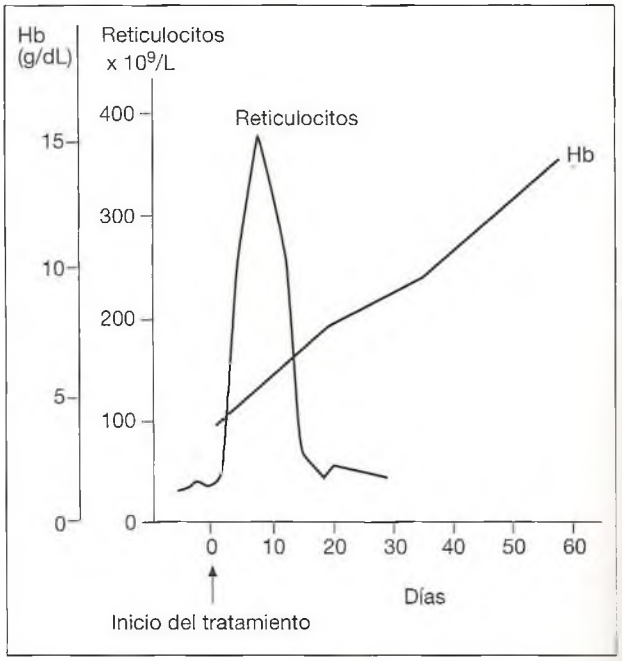


Figura 7.11. Crisis reticulocitaria en un caso de anemia perniciosa poco después de iniciar la administración terapéutica de hidroxicobalamina.

de esta enfermedad, desarrollan, con el tiempo, un adenocarcinoma gástrico, frecuencia significativamente superior a la que se observa en pacientes con la misma neoplasia, pero sin este antecedente. Por ello, se cree que la atrofia constituye en sí misma una lesión preneoplásica que predispone al desarrollo de una neoplasia gástrica. Por dicho motivo, una vez diagnosticada la anemia perniciosa e instaurada la administración de una dosis de recuerdo de Cbl, debe procederse a una vigilancia periódica de la mucosa gástrica mediante examen radiológico (o, en caso necesario, fibrogastroscopia), al objeto de detectar precozmente la aparición de un carcinoma. Esta actitud es de extraordinaria importancia clínica, y el hallazgo de un carcinoma en fase inicial y clínicamente silente puede no tener consecuencias si se extirpa a tiempo. Finalmente, en estos enfermos también debe prestarse una atención especial a posibles manifestaciones clínicas de agravamiento del proceso, como anorexia, pérdida de peso, dispepsia y trastornos intestinales diversos o hematológicos (anemia, hipocromía y/o aumento de la VSG), todos ellos sospechosos de la posible aparición de un proceso neoplásico.

Déficit de folato

La administración terapéutica de ácido fólico se realiza, generalmente, por vía oral, en la dosis diaria de 50 a 100 µg, hasta que desaparecen las manifestaciones clínicas y hematológicas de la megaloblastosis. Eventualmente, si no se observa respuesta positiva a esta vía de administración, puede emplearse la vía parenteral (solución de ácido fólico, 5 mg/mL).

En el tratamiento del déficit de folato, es muy importante mantener unos niveles adecuados de ácido fólico, para prevenir la patología vascular derivada del aumento

de homocisteína (hiperhomocisteinemia). Por ello, y para prevenir el riesgo de enfermedades cardiovasculares, algunos países han regulado oficialmente la suplementación de ciertos alimentos (cereales) mediante folato. Aunque ello constituye una causa de aumento del nivel de folato sérico en el conjunto de la población, el efecto real sobre el riesgo trombótico, o el empeoramiento de la neuropatía en caso de déficit de Cbl, aún se desconoce. Por otra parte está demostrado el efecto nocivo de la hiperhomocisteinemia, no sólo en la aparición de trombofilia, sino también durante el embarazo, ya que favorece los abortos de repetición y el *abruptio placentae*. Por ello, la administración de folato durante el embarazo es de gran importancia para el feto, ya que ejerce un efecto protector contra los defectos del tubo neural y, probablemente, también contra la preeclampsia, el labio leporino y otros trastornos. Igualmente, el tratamiento preventivo mediante la administración de folato también es muy recomendable en todas aquellas situaciones patológicas que cursan con hiperconsumo de folato, en individuos de edad avanzada aunque no presenten signos de desnutrición, y en enfermos sometidos a hemodiálisis o a terapéuticas prolongadas. En estos casos, se aconseja administrar dosis profilácticas de ácido fólico de 0,2 a 0,4 mg/día. La administración profiláctica de ácido fólico debe prescribirse también como única medicación en pacientes con síndromes hemolíticos de larga evolución, y en los que existe el peligro de una crisis megaloblástica por hiperconsumo. En los enfermos sometidos a tratamientos citostáticos (antagonistas del folato) es preferible el empleo de ácido folínico (formil-THF) por vía parenteral en dosis de 3-15 mg/día. La respuesta a la terapéutica se controla siguiendo los mismos métodos que se han empleado en el tratamiento del déficit de cobalamina[51].

Finalmente, al igual que en el déficit de cobalamina, si el déficit de folato es la consecuencia de una determinada enfermedad (malabsorción, principalmente) es fundamental el tratamiento de la misma. En cualquier caso, debe recordarse que nunca hay que administrar ácido fólico a pacientes con déficit de cobalamina, ya que ello podría agravar el cuadro neurológico existente o facilitar su aparición.

BIBLIOGRAFÍA

1. Antony AC. Megaloblastic anemias. En: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ et al (eds.). Hematology. Basic Principles and Pratice, 4.ª ed. Philadelpia: Elsevier. Churchill Livingstone, 2005; 519-556.
2. Green R, Miller J. Folate Deficiency Beyond Megaloblastic Anemia: Hyperhomocysteinemia and Other Manifestations of Dysfunctional Folate Status. Semin Hematol 1999; 36: 47-64.
3. Babior BM, Bunn HF. Megaloblastic anemias. En: Harrison's Principles of Internal Medicine Dennos L y Harper L (eds.). 16.ª ed. New York: McGraw Hill, 2005; 601-607.
4. Chanarin I. The megaloblastic anemias. 3.ª ed. Blackwell Science, 1990.
5. Marcuard SP, Albernaz RN, Khazanie PG. Omeprazole Therapy Causes Malabsorption of Cyanocobalamin (Vitamin B_{12}). Ann Intern Med 1994; 120:211-215.
6. Herbert V. Vitamin B_{12}. En: Ziegler EE, Filer LJ (eds.). Present knowledge in nutrition, 7.ª ed. Washington DC: International Life Sciences Institute (ILSI) Press, 1996; 191-205.
7. Lee GR. Nutritional factors in the production and function of erythrocytes. En: Lee R, Forester J, Lukes J et al (eds.). Wintrobe's Clinical Hematology. 10.ª ed. Williams & Willkins, 1999.
8. Rothenberg SP, Quadros EV. Transcobalamin II and the membrane receptor for the transcobalamon II-cobalamin complex. Ballière's Clin Haematol 1995; 8:499-514.
9. Hakami N, Neiman PE, Canellos GP, Lazerson J. Neonatal megaloblastic anemia due to inherited transcobalamin II deficiency in two siblings. N Engl J Med 1971; 285:1163-1167.
10. Carmel R. Megaloblastic Anemias: Disorders of impaired DNA synthesis. En: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas, Glader BE (eds.). Wintrobe's Clinical Hematology. 11.ª ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004; 1367-1388.
11. Scott JM, Bloomfield FJ, Stebbins R, Herbert V. Studies on derivation of transcobalamin III from granulocytes J Clin Invest 1974; 53:228-239.
12. Burger RL, Mehlman CS, Allen RH. Human plasma R-type vitamin B_{12} binding proteins. I. Isolation and characterization of transcobalamin I, transcobalamin III and the normal granulocyte vitamin B_{12} binding protein. J Mol Biol 1975; 250:7700-7709.
13. Rachmilewitz B, Rachmilevitz M. The clinical significance of serum transcobalamin in myeloid leukemia and other myeloproliferative disorders. Isr J Med Sci 1977; 13:710-715.
14. Weir DG, Scott JM. The biochemical basis of the neuropathy in cobalamin deficiency. Baillière's Clin Hematol 1995; 8: 479-497.
15. Blakley R, Whitehead VM. Folates and Pteridins. Nutritional Pharmacological and Physiological Aspects. Vol. 3 New York: Wiley-Interscience, 1986.
16. Lee GR, Herbert V. Nutritional Factors in the Production and Function of Erythrocytes. En: Lee R, Forester J, Lukes J et al (eds.): Wintrobe's Clinical Hematology, 10.ª ed. Williams & Willkins, 1999; 228-266.
17. Rodriguez MS. A conspectus of research on folacin requirements of man. J Nutrition 1978; 108:1983-1987.
18. Wagner C. Cellular folate binding proteins: function and significance. Annals Rev. Nutrition 1982; 2:229-236.
19. Hankey GJ, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. Lancet 1999; 354:407-413.
20. Scott JM Weir DG. The metyl folate trap. Lancet 1981; 2:337-339.
21. Green R. Metabolite assays in cobalamin and folate deficiency. En: Wickramasinghe SN (ed.). Megaloblastic Anaemias: Baillieres Clin Haematol 1995; 8:533-566.
22. Castle WB. The Conquest of Pernicious Anemia. En: Wintrobe MM (ed.). Blood Pure and Eloquent. New York: McGraw Hill, 1980.
23. Vives Mañé J, Vives Corrons JL. Anemia megaloblástica congénita por déficit de transcobalamina II. Efecto de un tratamiento prolongado con dosis elevadas de ácido folínico. Sangre (Barc) 1987; 32:654-660.
24. Hernández Nieto L, Hernández García MT, Pintado Cros T, Junca Piera J, Vives Corrons JL, Martín Vega C. En: Farreras Valentí P, Rozman C (eds.). Medicina Interna. 15.ª ed. Madrid: Elsevier, 2004; 1644-1669.
25. Remacha A, Souto JC, Ortuño F, Zuazu-Jausoro I, Mones J, Roca M et al. Anemias perniciosas de presentación sutil o atípica. Sangre (Barc) 1992; 37:109-113.
26. Savage DG, Lindenbaum J, Stabler SP, Allen RH. Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. Am J Med 1994; 96:239-246.
27. Herbert V, Das K. Folic acid and vitamin B_{12}. En: Shils ME, Olson JA, Shike M (eds.). Modern Nutrition in Health and Disease, 8.ª ed. Vol. 1 Lea&Febiger, 1994; 402-425.

CAPÍTULO 8

Anemias hemolíticas. Aspectos generales. Anemias hemolíticas hereditarias

J. L. Vives Corrons

ÍNDICE

Hemólisis y anemia hemolítica
Clasificación de las anemias hemolíticas
Manifestaciones clínicas: el síndrome hemolítico
Anemia hemolítica aguda
Anemia hemolítica crónica
Diagnóstico del síndrome hemolítico
Demostración de la existencia de hemólisis
Investigación de la causa de hemólisis
Sistemática a seguir para el diagnóstico de la anemia hemolítica
Membranopatías eritrocitarias
Esferocitosis hereditaria
Eliptocitosis congénita
Estomatocitosis
Acantocitosis
Equinocitosis
Codocitosis
Enzimopatías eritrocitarias
Enzimopatías de la glucólisis anaerobia
Enzimopatías del metabolismo oxidorreductor
Enzimopatías del metabolismo nucleotídico
Bibliografía

HEMÓLISIS Y ANEMIA HEMOLÍTICA

La palabra hemólisis (hemo: ημο y lisis: λισισ) significa «destrucción de la sangre», y hace referencia al acortamiento de la vida o sobrevivencia de los eritrocitos en la circulación sanguínea. La hemólisis puede obedecer a causas muy diversas, pero su denominador común es una lesión del eritrocito que condiciona su desaparición precoz de la circulación. Desde que salen de la médula ósea hasta que son eliminados por el sistema mononuclear fagocítico (SMF), los eritrocitos viven aproximadamente 120 días, es decir, unos cuatro meses, y cuando este período disminuye existe hemólisis. Una consecuencia inmediata de la hemólisis es la disminución de la concentración de hemoglobina (anemia) que tiende a ser contrarrestado por un estímulo de la eritropoyesis secundario a un aumento de la eritropoyetina. Bajo condiciones de máximo estímulo, la médula ósea normal es capaz de aumentar entre seis y ocho veces la producción de eritrocitos, lo que en teoría permite evitar la aparición de anemia incluso en casos de supervivencia eritrocitaria inferior a 20 días. Ello explica que algunos enfermos con hemólisis bien demostrada no presenten anemia, ya que ésta es contrarrestada por un aumento de la producción de eritrocitos. Esta situación se conoce como «hemólisis compensada», y se caracteriza por la existencia de un aumento de la concentración de reticulocitos (reticulocitosis).

Las causas de hemólisis implican siempre una lesión del eritrocito, que puede ser de origen hereditario o adquirido. Las causas más frecuentes de anemia hemolítica se resumen en la tabla 8.1 y, entre ellas, destacan las que aparecen en adultos sin antecedentes familiares o personales de hemólisis o de anemia hemolítica. Las anemias hemolíticas hereditarias obedecen a defectos genéticos de proteínas eritrocitarias, como la hemoglobina (hemoglobinopatías), membrana (membranopatías) o enzimas del metabolismo (eritroenzimopatías). Dado que son muchas las causas de hemólisis, el diagnóstico etiológico de una anemia hemolítica no es siempre tarea fácil y, práctica-

TABLA 8.1

Causas de la anemia hemolítica

ANEMIAS HEMOLÍTICAS CONGÉNITAS
Membranopatías
- Esferocitosis hereditaria
- Eliptocitosis congénita
- Trastornos de la permeabilidad iónica
- Abetalipoproteinemia
- Déficit de lecitincolesterolaciltransferasa (LCAT)
- Síndrome Rh_0
- Fenotipo McLeod

Enzimopatías
- Déficit de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (G6PD)
- Déficit de piruvato-cinasa (PK)
- Otras enzimopatías

Hemoglobinopatías
- Hemoglobinopatías estructurales
- Talasemias

ANEMIAS HEMOLÍTICAS ADQUIRIDAS
Anemias hemolítica inmunes
- Anemia hemolítica autoinmune (autoanticuerpos)
  - Anticuerpos calientes
  - Anticuerpos frios
  - Anticuerpos de Donath-Landsteiner
- Anemia hemolítica por incompatibilidad transfusional
- Enfermedad hemolítica del recién nacido
- Anemia inmunomedicamentosa
- Hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN)

Anemias hemolíticas mecánicas
- Microangiopáticas
  - Síndrome hemolítico urémico (SHU)
  - Púrpura trombótica trombocitopática (PTT)
- Prótesis valvulares
- Traumáticas (hemoglobinuria de la marcha)

Anemias hemolíticas infecciosas
- Por parásitos (paludismo, toxoplasma, *Leishmanias, Babesia*)
- Por bacterias (*Bartonella, Clostridium,* cólera)

Anemias hemolíticas por agentes físicos o químicos
- Agentes oxidantes
- Sustancias químicas
- Hemodiálisis
- Venenos

Anemias hemolíticas metabólicas (secundarias a enfermedades)
- Hipofosfatemia
- Hepatopatía (síndrome de Zieve)
- Insuficiencia renal (uremia)

mente, siempre es el resultado de integrar los conocimientos clínicos con los fisiopatológicos y determinadas pruebas de laboratorio, a veces complejas, cuya realización sólo se halla al alcance de laboratorios especializados.

CLASIFICACIÓN DE LAS ANEMIAS HEMOLÍTICAS

Las anemias hemolíticas pueden clasificarse desde cuatro puntos de vista: etiológico, fisiopatológico, clínico y genético.

Clasificación etiológica. Según su etiología, las anemias hemolíticas se clasifican en *intracorpusculares* y *extracorpusculares*. Las primeras obedecen a un defecto intrínseco del eritrocito y todas ellas obedecen a defectos genéticos, hereditarios o adquiridos. Las segundas siempre se deben a una lesión secundaria del eritrocito normal por agentes diversos de origen plasmático o vascular.

Clasificación fisiopatológica. Según su mecanismo fisiopatológico, las anemias hemolíticas se clasifican en *extravasculares* e *intravasculares*. Las primeras constituyen una exacerbación de la eliminación fisiológica de los eritrocitos en el SMF, y las segundas obedecen a rotura (lisis) o fragmentación de los eritrocitos en el interior del sistema vascular. Aunque en todo proceso hemolítico siempre existe un comportamiento mixto, cuando predomina el mecanismo extravascular, la caracteristica fundamental es un aumento de hierro en el SMF y la concentración plasmática de bilirrubina, pigmento resultante de la degradación del grupo hemo. Este aumento de bilirrubina, principalmente a expensas de su fracción prehepática o no conjugada (fracción indirecta), va acompañado casi siempre de ictericia, cuya intensidad depende de la propia concentración de bilirrubina. La hemólisis intravascular produce siempre hemoglobina libre en el plasma, con posibilidad de eliminación urinaria (hemoglobinuria). Dado que la hemoglobina no debe circular nunca libre en el plasma, cuando existe es inmediatamente fijada y eliminada por la haptoglobina (Hpt), proteína del plasma sintetizada por el hígado. Si la hemólisis intravascular es leve, la poca hemoglobina liberada produce una importante disminución (o incluso desaparición) de la haptoglobina, sin más; pero si sobrepasa la capacidad fijadora de la Hpt, el exceso de hemoglobina es eliminada directamente por el riñón, donde es captada por las células tubulares, que la degradan y acumulan el hierro en forma de hemosiderina. La presencia de hemosiderina en las células tubulares de descamación siempre es un signo de hemólisis intravascular, y puede determinarse fácilmente mediante observación morfológica del sedimento urinario teñido mediante la coloración de Perls (*hemosiderinuria*). Cuando la hemólisis intravascular es muy intensa y sobrepasa la capacidad de fijación de las células tubulares del riñón, la hemoglobina, ya degradada a metahemalbúmina y otros compuestos, es eliminada por la orina (*hemoglobinuria*) la cual, debido a ello, adquiere un color oscuro muy característico y semejante al de la «Coca-Cola» (fig. 8.1). Al igual que la hemosiderinuria, la hemoglobinuria es siempre un signo de hemólisis intravascular, en este caso aguda y generalmente intensa.

Clasificación clínica. Según el *comportamiento clínico*, la anemia hemolítica puede clasificarse en *aguda* o *crónica*. La anemia hemolítica aguda es la que aparece bruscamente en un sujeto previamente sano, y se caracteriza por un rápido descenso de la concentración de hemoglobina, manifestaciones clínicas llamativas y, ocasionalmente, hemoglobinuria (orinas oscuras). La anemia hemolítica crónica es la que aparece de forma más solapada, con disminución variable de la concentración de hemoglobina y con signos clínicos de hemólisis crónica, como ictericia y esplenomegalia. Cabe señalar la importancia que en ambos tipos de anemia hemolítica tiene el

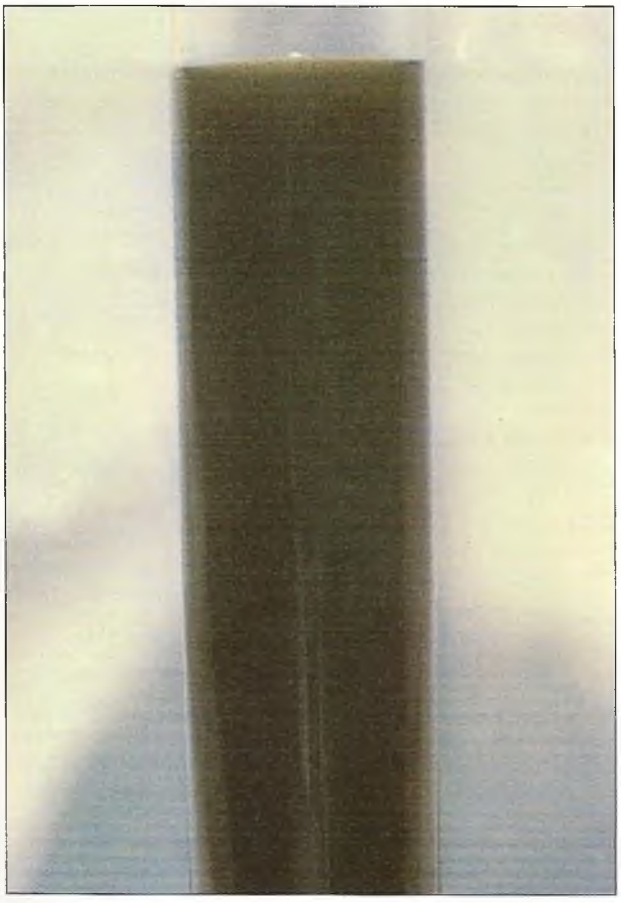


Figura 8.1. Orina oscura (hemoglobinuria) en un caso de hemólisis aguda intravascular.

recuento de reticulocitos, ya que éstos se hallarán siempre muy aumentados (reticulocitosis).

Clasificación genética. Según su *mecanismo genético*, las anemias hemolíticas se clasifican en *hereditarias* y *adquiridas*. Las primeras obedecen a defectos en los genes que codifican la síntesis de proteínas imprescindibles para la vida del eritrocito y que se transmiten con la herencia: hemoglobina, proteínas de membrana y enzimas. En la gran mayoría de casos, aparecen poco después del nacimiento (congénitas) y permanecen durante toda la vida. Las adquiridas aparecen en el curso de la vida, y no se transmiten con la herencia, pero al igual que las primeras, obedecen a alteraciones del eritrocito que, inducidas por causas muy diversas (algunas de ellas también genéticas), disminuyen su supervivencia en la circulación.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS: EL SÍNDROME HEMOLÍTICO

En general, el síndrome hemolítico presenta un comportamiento clínico y biológico bastante característico[1,2] pero debido a la existencia de situaciones diversas que pueden inducir a confusión, la valoración de los datos aportados por el laboratorio debe hacerse siempre dentro del contexto de la anamnesis y exploración física del paciente (tabla 8.2). En primer lugar, la expresividad clínica de un síndrome hemolítico depende de la intensidad de la anemia y de su forma de presentarse (aguda o crónica). Dado que ambos factores dependen en gran medida de la causa que origina la hemólisis, la expresividad clínica de un síndrome hemolítico puede variar desde la práctica ausencia de sintomatología hasta una anemia grave con requerimiento transfusional[3].

TABLA 8.2

Situaciones que asemejan un síndrome hemolítico

- **Anemia y reticulocitosis**
  - Hemorragia
  - Crisis reticulocitaria en caso de anemia carencial
  - Recuperación de una insuficiencia medular
- **Anemia e ictericia acolúrica**
  - Eritropoyesis ineficaz
  - Hemorragia oculta
- **Ictericia acolúrica sin anemia (hiperbilirrubinemia familiar)**
  - Enfermedad de Crigler-Najjar
  - Enfermedad de Gilbert
  - Enfermedad de Dubin-Johnson
- **Mieloptisis (metástasis medular)**
- **Mioglobinuria**

Anemia hemolítica aguda

Aparece bruscamente en un sujeto previamente sano, y se caracteriza por manifestaciones clínicas muy llamativas, como fiebre, malestar general, mareo, dolor abdominal, ictericia o palidez intensa, fatiga muscular, taquicardia con palpitaciones y, eventualmente, emisión de orina oscura debido a la hemoglobinuria. El nombre de «orinas oscuras» que se atribuye a la hemoglobinuria no debe inducir a confusión con la coluria, propia de ciertas hepatopatías y debida a la eliminación urinaria de bilirrubina y pigmentos biliares. Si la anemia es muy intensa, puede existir pérdida del conocimiento, signos de insuficiencia renal y shock hipovolémico, con grave riesgo para la vida del paciente. Si se trata de un niño o un adulto joven, el antecedente de ingesta medicamentosa es altamente sugestivo de déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD), anemia hemolítica medicamentosa o hemoglobinopatía inestable. Por el contrario, en un sujeto adulto, lo más probable es que se trate de una anemia hemolítica de origen inmune (anemia hemolítica autoinmune o inmunomedicamentosa), microangiopática (hemólisis mecánica) o de una hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN).

Anemia hemolítica crónica

Esta forma de anemia hemolítica se caracteriza por su forma de aparición generalmente lenta e insidiosa, lo que permite al organismo desarrollar los correspondientes mecanismos de adaptación. Por ello, si la hemólisis no es muy manifiesta, la expresividad clínica es tan poco acusada que incluso puede pasar desapercibida. En formas más graves, puede existir un síndrome anémico de intensidad variable. El examen físico pone de relieve una palidez

cérea o una franca ictericia con esplenomegalia palpable. La intensidad de la ictericia y su distribución (piel y/o mucosas) es variable, aunque en la mayoría de los casos se halla limitada a la conjuntiva ocular (subictericia conjuntival) (fig. 8.2). La ictericia hemolítica obedece al exceso de bilirrubina no conjugada o libre (denominada también «indirecta») por lo que, incluso cuando es muy intensa, nunca va acompañada de coluria (ictericia acolúrica) y prurito, excepto cuando coexiste con una enfermedad hepatobiliar (litiasis y obstrucción de las vías biliares).

Figura 8.2. Ictericia subconjuntival en un paciente afecto de hemólisis crónica.

La edad es un dato clínico de gran trascendencia en el diagnóstico de las anemias hemolíticas crónicas. Al igual que en las formas agudas, cuando aparece en niños y personas jóvenes, lo más probable es un origen hereditario, por lo que debe indagarse la posible existencia de antecedentes personales o familiares de hemólisis (ictericia neonatal o frecuentes «hepatitis»). La realización de un estudio familiar lo más completo posible, también puede ser de gran utilidad clínica. Por el contrario, cuando aparece durante la edad adulta, debe sospecharse, en primer lugar, el mecanismo adquirido. No obstante, la elevada incidencia de las alteraciones congénitas en nuestro entorno geográfico mediterráneo hace que la consideración del origen étnico o la existencia de antecedentes de hemólisis tengan, entre nosotros, aquí mucho más valor[4].

Complicaciones de la hemólisis crónica

Dado el carácter evolutivo de la hemólisis crónica, su expresividad clínica es más una consecuencia de sus posibles complicaciones que del propio síndrome anémico. Estas complicaciones son tanto más importantes cuanto mayor es la intensidad de la anemia (tabla 8.3). Así, las debidas a hipoxia crónica son especialmente evidentes en casos de anemia intensa y de inicio neonatal (talasemia mayor y anemia falciforme, principalmente) y consisten en retraso del desarrollo óseo con escaso crecimiento corporal, retraso del desarrollo gonadal (caracteres secundarios y menarquía) y, eventualmente, úlceras maleolares. Este tipo de complicaciones suelen ir asociadas con los efectos secundarios

TABLA 8.3

Complicaciones del síndrome hemolítico crónico

1- ANEMIA HEMOLÍTICA INTENSA
Complicaciones debidas a la hipoxia crónica
- Retraso del desarrollo óseo
- Retraso del desarollo gonadal
- Úlceras maleolares

Complicaciones debidas al exceso de eritropoyesis
- Deformaciones craneofaciales
- Expansiones óseas (compresión medular)
- Hiperconsumo de acido fólico (crisis megaloblástica)*
- Sobrecarga de hierro

2- ANEMIA HEMOLÍTICA MODERADA
Complicaciones debidas al hipercatabolismo hemoglobínico
- Litiasis biliar

Complicaciones debidas al hiperesplenismo
- Leucopenia
- Plaquetopenia
- Crisis hemolítica*

Complicaciones infecciosas (parvovirus humano B19)
- Crisis de aplasia o de eritroblastopenia*

* Crisis que pueden observarse en el curso evolutivo de un síndrome hemolítico.

que produce la excesiva eritropoyesis como, por ejemplo, deformaciones del esqueleto por expansión de la médula ósea como consecuencia del exceso de eritropoyesis. Estas deformaciones son especialmente evidentes en el cráneo y la cara (turricefalia, facies mongoloide, implantación anómala de los dientes y otras distorsiones de la configuración ósea) que pueden evidenciarse radiológicamente por ensanchamiento del díploe con imagen estriada característica del llamado «cráneo en cepillo» (fig. 8.3). En casos graves, la expansión del tejido eritropoyético puede producir tumoraciones vertebrales con compresión del canal medular y parálisis, o dolores radiculares muy intensos.

En las formas de anemia hemolítica crónica poco manifiesta, las complicaciones más frecuentes son las debidas al hipercatabolismo de la hemoglobina como, por ejemplo, la litiasis biliar, que, pese a su relativa frecuencia, puede pasar clínicamente desapercibida. En general, constituye un hallazgo casual en personas jóvenes o después de una exploración radiológica practicada como consecuencia del dolor abdominal[4,5].

Otras complicaciones de la anemia hemolítica crónica son los trastornos del metabolismo del hierro y las llamadas *crisis de descompensación*. La excesiva eritropoyesis puede facilitar la aparición de un estado de sobrecarga férrica e incluso de hemocromatosis en individuos genéticamente predispuestos, debido al efecto positivo de la eritropoyesis sobre la absorción del hierro intestinal. Las crisis de descompensación suelen observarse en procesos hemolíticos crónicos con períodos asintomáticos prolongados que se caracterizan por un descenso brusco de la hemoglobina (20-60 g/L) y un gran aumento o disminución del número de reticulocitos circulantes.

Figura 8.3. Imagen radiológica característica de «cráneo en cepillo» en un paciente con anemia hemolítica muy intensa de inicio neonatal. Se aprecia un marcado ensanchamiento del díploe y disposición desflecada de la estructura ósea.

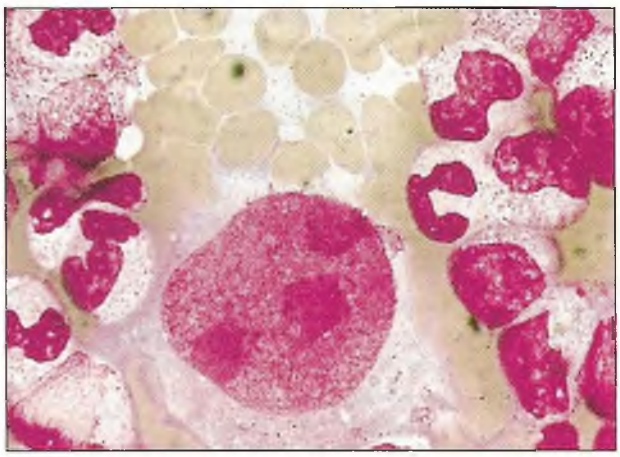


Figura 8.4. Imagen de un proeritroblasto gigante característico de bloqueo madurativo de la eritropoyesis debido a eritroblastopenia aguda inducida por el parvovirus humano B19 (PVH B19) y conocido también como «célula de Gasser» (médula ósea MGG ×800 A).

Existen tres formas clínicas de descompensación en un proceso hemolítico crónico: *a*) la crisis de eritroblastopenia aguda o aplasia selectiva de serie roja secundaria a infección por el parvovirus humano (PVH) tipo B19; *b*) crisis hemolítica con agudización del cuadro anémico, y *c*) crisis megaloblástica por agotamiento de las reservas de folato.

Crisis de eritroblastopenia. Se conoce también como aplasia selectiva de serie roja. Es la forma de descompensación de un síndrome hemolítico crónico y, en prácticamente todos los casos, obedece a una infección por el PVH tipo B19[6]. Este virus es el causante del exantema infantil y un síndrome poliartropático agudo del adulto, y aunque suele aparecer esporádicamente, muchas veces resulta de una epidemia cuya vía de transmisión principal es el aparato respiratorio. En general, afecta preferentemente a niños y jóvenes de edad comprendida entre 15 y 25 años, y su frecuencia aproximada se ha estimado en el 2,4%, aproximadamente, del total de anemias hemolíticas, en especial drepanocitosis, β-talasemia, déficit de piruvato cinasa y esferocitosis hereditaria. La duración del proceso no suele superar los 15 días, la recuperación es espontánea y su diagnóstico exige la demostración de anticuerpos IgM anti-PVH (fase de actividad). Los anticuerpos IgG, presentes en más del 60% de individuos sanos, constituyen un reflejo de inmunidad adquirida por infección reciente o pasada, en general, subclínica. El mecanismo etiopatogénico de la crisis de eritroblastopenia aguda se atribuye al efecto inhibidor del PVH sobre el crecimiento del CFU-E (progenitor eritroide formador de colonias eritroides pequeñas o tardías) y algo menos sobre la BFU-E (progenitor formador de colonias eritroides grandes o precoces). El examen morfológico de la médula ósea muestra una desaparición de todos los precursores eritroides (eritroblastos en todas sus etapas madurativas) a excepción de algún proeritroblasto, que presenta una morfología peculiar y caracterizada por su gran tamaño y núcleo de cromatina laxa con dos o tres nucléolos prominentes (fig. 8.4). Este proeritroblasto, que suele hallarse aislado en una extensión de aspirado de médula ósea, presenta los rasgos morfológicos propios de un bloqueo madurativo muy al inicio de la línea celular y que, en honor a su descubridor, se la conoce como célula de Gasser[7].

Crisis hemolítica. Se conoce también como crisis de agudización y consiste en un aumento brusco de la actividad hemolítica del bazo por hiperfunción esplénica (hiperesplenismo). Se caracteriza por un agravamiento del cuadro clínico con intensificación de la anemia, la reticulocitosis, la ictericia y un aumento significativo del tamaño del bazo. En casos graves, puede acompañarse también de leucopenia y plaquetopenia.

Crisis megaloblástica. Se conoce también como crisis de hiperconsumo, y obedece al agotamiento de las reservas de folato como consecuencia del exceso de consumo causado por el aumento de la actividad eritropoyética. Es una forma de evolución mucho menos frecuente que las dos anteriores y, a diferencia de ellas, se caracteriza por una instauración lenta y progresiva, pero suele comportar un marcado agravamiento del cuadro clínico, con aparición de anemia megaloblástica intensa y reticulocitopenia (reticulocitos < 1%).

DIAGNÓSTICO DEL SÍNDROME HEMOLÍTICO

El diagnóstico de un síndrome hemolítico tiene dos objetivos principales: demostrar la existencia de hemólisis e investigar su causa.

Demostración de la existencia de hemólisis

Demostrar la existencia de hemólisis requiere, en primer lugar, la realización de diversas pruebas generales de laboratorio que permiten objetivar, aunque de forma indirecta, la eliminación precoz de los eritrocitos circulantes. Entre ellas destacan:

1. El hemograma.
2. El recuento de reticulocitos.

3. El examen morfológico de la sangre.
4. El análisis de indicadores biológicos de hemólisis.

En caso necesario, estas exploraciones pueden complementarse con la determinación de la vida media eritrocitaria, que permite una demostración objetiva de la existencia de hemólisis y un examen morfológico de la médula ósea, que demuestra la existencia de un aumento de regeneración eritroblástica.

Hemograma. Es imprescindible para el diagnóstico de una anemia hemolítica, ya que informa sobre la concentración de hemoglobina (anemia) y algunas de las propiedades de los eritrocitos, como el VCM y la CCMH. En la anemia hemolítica, el VCM suele ser normal (anemia normocítica), aunque no es infrecuente observar ligeros aumentos (98-105 fL) debido a la reticulocitosis coexistente (los reticulocitos tienen un VCM muy superior al de los eritrocitos maduros). La disminución del VCM en el curso de una anemia hemolítica debe hacer pensar en talasemia o hemoglobinopatía. El valor de la CCMH suele hallarse disminuido en la anemia hemolítica debido a los reticulocitos, cuyo contenido hemoglobínico es inferior al de los eritrocitos maduros[8]. Por ello, ante un valor de CCMH elevado (CCMH > 350 g/L) debe sospecharse la existencia de un trastorno con hiperconcentración de la hemoglobina eritrocitaria (hipercromía) como, por ejemplo, la esferocitosis hereditaria (EH) o la xerocitosis congénita[6].

Recuento de reticulocitos. Es una prueba obligada cuando se sospecha la existencia de hemólisis, ya que en esta situación es característico el aumento de su concentración en sangre (reticulocitosis). Normalmente, los reticulocitos, inmediatamente después de la expulsión del núcleo eritroblástico, se caracterizan por presentar un aspecto globuloso y superficie invaginada (reticulocito inmaduro o tipo I) que, antes de salir a la sangre, permanecen en la médula unos cuatro días hasta adoptar la forma de un eritrocito adulto. En la anemia hemolítica, la aceleración del proceso madurativo eritroblástico va acompañada de una salida prematura de reticulocitos tipo I a la sangre periférica, con lo que a veces éstos pueden visualizarse por su mayor tamaño y tonalidad algo azulada (macrocito policromático). Los macrocitos policromáticos presentan a veces un fino punteado basófilo, reflejo de un elevado contenido en RNA o de inmadurez (fig. 8.5). Cuando la concentración de reticulocitos se determina mediante el procedimiento morfológico de la tinción vital con azul de metileno nuevo (o cresilo brillante) éstos se ponen de manifiesto por un reticulado característico debido a la precipitación de RNA (fig. 8.6). Cuando se utiliza este procedimiento, no obstante, debe prestarse especial atención a la posible existencia de precipitados intraeritrocitarios no debidos a RNA. Entre ellos, destacan los llamados cuerpos de Heinz espontáneos, cuya presencia orienta hacia determinadas causas de hemólisis, como el déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) causa del favismo, o hemoglobinas inestables (Hb Köln). Una forma especial de cuerpos de inclusión intraeritrocitarios son los precipitados por exceso de cadenas de globina beta, que pueden observarse en la α-talasemia (hemoglobinopatía H). En la actualidad, la incorporación a los analizadores hematológicos automatizados de sistemas que miden la concentración de reticulocitos en sangre de forma sistemática, permite conocer esta magnitud de forma mucho más rápida que con el procedimiento morfológico convencional, aunque su fiabilidad puede verse interferida por la presencia de inclusiones eritrocitarias mal registradas como RNA. Un avance importante aportado por estos analizadores es que suministran información sobre el grado de madurez de la población reticulocitaria analizada, lo cual es especialmente útil para conocer de manera precoz la capacidad regenerativa y de respuesta de la médula ósea frente a la acción de citostáticos o irradiación (fig. 8.7). El conocimiento de la concentración de reticulocitos circulantes en caso de anemia no sólo tiene valor diagnóstico sino que es una ayuda imprescindible para su seguimiento evolutivo[7]. Tal sucede con las diferentes formas de descompensación caracterizadas por un descenso, a veces espectacular, de la hemoglobina, y cuya orientación diagnóstica viene dada

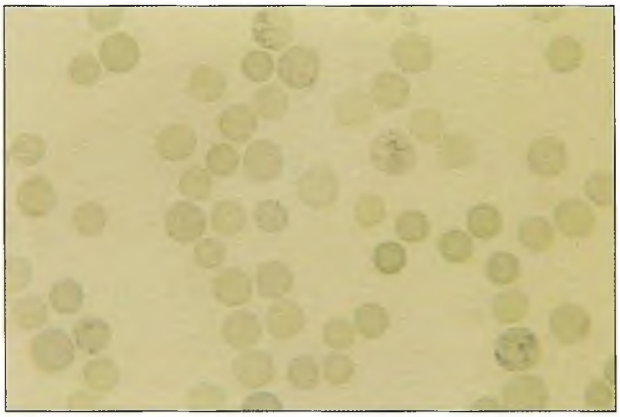


Figura 8.5. Observación morfológica de la sangre periférica en caso de reticulocitosis (tinción mediante azul de metileno nuevo A ×800).

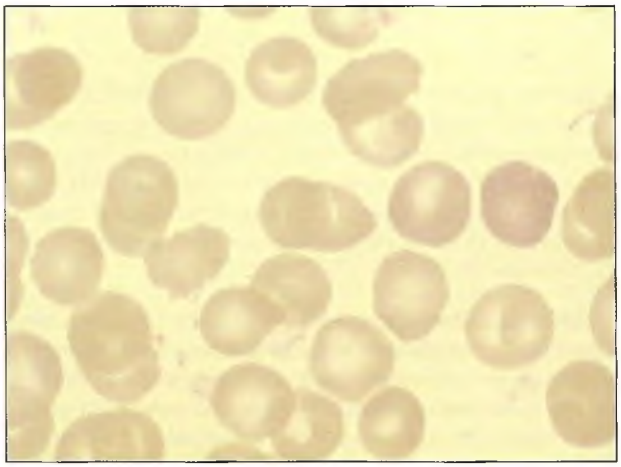


Figura 8.6. Observación morfológica de sangre periférica en un caso de anemia intensa de carácter regenerativo. Apréciense dos macrocitos policromáticos cuyo aspecto hace suponer que se trata de reticulocitos jóvenes o tipo 1.

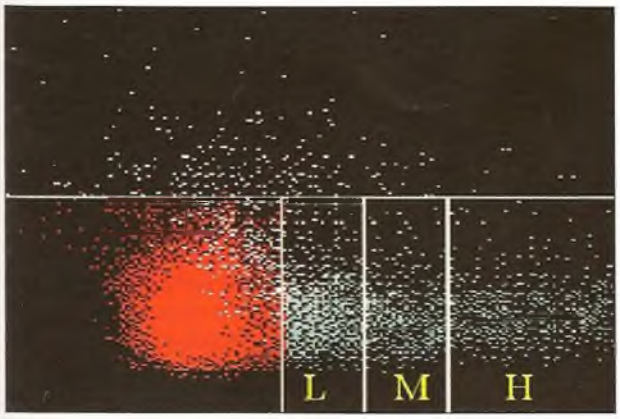


Figura 8.7. Histograma de un recuento de reticulocitosis obtenido mediante un analizador automatizado. La población reticulocitaria se distribuye en tres subpoblaciones: 1-bajo, L (*low*), 2-medio, M (*medium*) y 3-alto, H (*high*) contenido en RNA.

por el recuento de reticulocitos[3]. Así, si existe un incremento del número de reticulocitos, lo más probable es que se trate de una crisis hemolítica por hiperesplenismo, mientras que si se aprecia intensa reticulocitopenia (< 1%), puede tratarse de una crisis de eritroblastopenia (PVH B19) o megaloblástica (déficit de folato).

Examen morfológico de la sangre. Constituye, a pesar de los avances de la automatización, una prueba obligada en el estudio inicial de toda anemia hemolítica. Ello es así porque contribuye a confirmar las alteraciones del hemograma, especialmente en lo que se refiere a variaciones en el tamaño o concentración hemoglobínica de los eritrocitos (anisocitosis), y resulta imprescindible para conocer la existencia de alteraciones de la forma. Los analizadores electrónicos informan, a través del VCM, de las alteraciones de tamaño eritrocitario, pero nunca sobre las alteraciones de la forma, las cuales, en algunos casos, constituyen un criterio hematológico fundamental. Ejemplo de ello es la anemia hemolítica microangiopática, cuyo diagnóstico requiere la observación de esquistocitos (eritrocitos fragmentados) en sangre periferica, o ciertas membranopatías hereditarias, como la esferocitosis o la eliptocitosis, en las que la observación morfológica de sangre periférica es fundamental. Igualmente, la presencia de punteado basófilo intenso es altamente orientativo de déficit de pirimidina 5' nucleotidasa (P5'N), enzima eritrocitaria que degrada el exceso de RNA. Otras alteraciones de la morfología eritrocitaria no corresponden a diagnósticos concretos, pero son altamente orientativas como, por ejemplo, la acantocitosis en la abeta-lipoproteinemia y ciertas hepatopatías graves, la dacriocitosis en la esplenomegalia o síndromes mieloproliferativos (mielofibrosis idiopática) o la presencia de eritrocitos en diana en las talasemias. Igualmente, el examen morfológico de los eritrocitos permite apreciar alteraciones del contenido hemoglobínico, como la hipocromía, la hipercromía o la presencia de inclusiones u otras alteraciones de posible valor diagnóstico. Finalmente, la observación morfológica de los leucocitos y plaquetas que acompaña a la de los eritrocitos también puede contribuir al diagnóstico de la causa o causas que han originado una determinada anemia hemolítica[8].

Indicadores biológicos de hemólisis. Son variaciones de determinados parámetros biológicos generalmente utilizados en la práctica clínica para el estudio del síndrome hemolítico. Todos ellos constituyen pruebas indirectas de la destrucción eritrocitaria, excepto la vida media de los eritrocitos, que es una prueba confirmatoria (tabla 8.4).

TABLA 8.4

Indicadores de hemólisis

INDICADORES GENERALES DE HEMÓLISIS
Bilirrubina en plasma (fracción indirecta o no conjugada)
Lactatodeshidrogenasa (LDH) en plasma
Haptoglobina y hemopexina en plasma
Glicohemoglobina (HB A_{1C})
Estercobilinógeno fecal
Urobilinógeno fecal
Regeneración eritroblástica en médula ósea
INDICADORES DE HEMÓLISIS INTRAVASCULAR
Hemoglobina libre en plasma
Metahemalbúmina
Hemosiderinuria
PRUEBA CONFIRMATORIA DE HEMÓLISIS
Vida media eritrocitaria

Los indicadores generales de hemólisis son los que se utilizan en la práctica clínica como complemento al estudio de sangre periférica. Incluyen un conjunto de marcadores de suero, orina y heces, y excepcionalmente el examen morfológico de médula ósea, con el objeto de demostrar un aumento de regeneración eritroblástica. En caso de duda diagnóstica, la prueba confirmatoria es siempre la práctica de una vida media eritrocitaria.

1. **Bilirrubina plasmática.** Su concentración en plasma aumenta cuando existe un hipercatabolismo de la hemoglobina. Este aumento se realiza a expensas de su fracción prehepática o no conjugada, debido a lo cual no se elimina por la orina como sucede en caso de hepatopatía (coluria). El depósito del exceso de bilirrubina en la piel da lugar a ictericia, y cuando ésta es acolúrica el origen hemolítico de la anemia es muy probable[1].
2. **Lacticodeshidrogenasa (LDH plasmática).** Es una enzima del plasma cuya actividad suele aumentar en la hemólisis debido a su elevada concentración intraeritrocitaria. Lamentablemente, el aumento de LDH es una prueba poco específica ya que puede hallarse aumentada en muchas otras situaciones no debidas a hemólisis como, por ejemplo, en la anemia megaloblástica y la diseritropoyesis en general, en el infarto de miocardio, ciertas miopatías, neoplasias, insuficiencia renal, y hemopatías malignas como la mielofibrosis idiopática (de gran valor diagnóstico) y los linfomas (de gran valor pronóstico). En la anemia megaloblástica, el aumento de LDH sérica obedece al aborto intramedular de los precursores eritroides (eritropoyesis ineficaz) y a la destrucción periférica de los macroovalocitos y eritrocitos con inclusiones (hemólisis). En caso de duda diagnóstica, el estudio

de la actividad LDH sérica puede complementarse con el de sus isoenzimas, ya que permite diferenciar entre aborto intramedular o hemólisis periférica Así, en la hemólisis periférica se observa un predominio de la fracción LDH-2, mientras que en el aborto intramedular (eritropoyesis ineficaz), predomina la fracción LDH-1[2,3].

3. **Haptoglobina (Hpt) plasmática.** La disminución de Hpt sérica o plasmática constituye otro signo de hemólisis, aunque su especificidad es similar a la del aumento de LDH, ya que disminuye también en caso de megaloblastosis. La haptoglobina es una α_2-glucoproteína sintetizada en el hígado, cuya estructura se halla determinada genéticamente en tres fenotipos principales, con diferente capacidad para fijar la hemoglobina. La Hpt sólo se fija a la hemoglobina cuando ésta se halla libre en el plasma, pero no en grupos hemo libres o mioglobina, y forma con ella un complejo hemoglobina-haptoglobina (Hb-Hpt) que es degradado por el hígado y, finalmente, eliminado. Normalmente, pequeñas cantidades de hemoglobina pasan al plasma y son rápidamente eliminadas por la Hpt, evitando así que el complejo Hb-Hpt atraviese el glomérulo renal. En caso de hemólisis, se produce un aumento de la cantidad de Hb libre en plasma, y cuando éste es superior a cierto límite se sobrepasa la capacidad de fijación de la Hpt y ésta disminuye o desaparece por completo y la hemoglobina libre se elimina por el riñon. Los valores de referencia de la Hpt varían entre 0,5 y 1,5 g/L, y en caso de hemólisis el valor puede ser de 0. Este descenso suele durar unas 48 horas, y después asciende lentamente hasta adquirir valores normales, aunque el proceso hemolítico no haya remitido aún por completo o persista durante un tiempo prolongado. Esto quiere decir que la utilidad diagnóstica de la Hpt se limita a las primeras horas de iniciada la hemólisis y que, a partir de cierto tiempo, pierde su valor a pesar de que ésta persista en cierto grado[9].
4. **Hemopexina (Hpx) plasmática.** En la hemólisis se observa también un descenso de la hemopexina plasmática cuyo curso es similar al de la Hpt, pero de menor valor práctico. Ello obedece a que la Hpx presenta valores mucho más variables y su presencia sólo es apreciable en caso de hemólisis intravascular muy intensa[2,3].
5. **Glicohemoglobina (HbA_{1c}).** La hemoglobina glicosilada o HbA_{1c} también puede ser un indicador útil de hemólisis, ya que suele disminuir hasta valores del 2 al 5% (valores de referencia: 6-8%). Esta prueba pierde de gran parte de su valor cuando la anemia hemolítica coexiste con diabetes mellitus o hemorragia[2,3].
6. **Estercobilinógeno fecal.** Otro signo del hipercatabolismo bilirrubínico es el aumento del estercobilinógeno fecal. Un adulto normal elimina entre 50 y 300 mg de estercobilinógeno por las heces en 24 horas. En un proceso hemolítico, esta cifra es prácticamente siempre superior a 400 mg/día, por lo que su determinación constituye un índice muy sensible de destrucción eritrocitaria. En casos de anemia hemolítica intensa, el aumento de la eliminación fecal de estercobilinógeno va acompañado de cierto grado de urobilinuria, lo que confiere una coloración oscura a la orina que puede sobreañadirse a la hemoglobinuria[2,3].
7. **Vida media eritrocitaria.** Aunque la determinación de la vida media eritrocitaria mediante cromo marcado (^{51}Cr T/2) continúa siendo el procedimiento más directo y específico para cuantificar el grado de destrucción eritrocitaria, su carácter engorroso y molesto para el enfermo hace que se reserve únicamente para aquellos casos en los que es estrictamente necesario[1,2]. El método más empleado para determinar la vida media eritrocitaria se basa en marcar los eritrocitos del paciente con cromo radiactivo (^{51}Cr) y reinyectarlos, procediendo luego a practicar extracciones seriadas (cada 3 o 4 días durante un mínimo de 20 días) y medir, cada vez, la intensidad de radiactividad residual. A partir de la radiactividad inicialmente inyectada (100%), la vida media eritrocitaria (^{51}Cr T/2) corresponde al tiempo en que ésta se reduce a la mitad (50%), y puede calcularse a partir de la correspondiente representación gráfica de los valores obtenidos (fig. 8.8). En un individuo normal, el valor de ^{51}Cr T/2 varía entre 25 y 32 días y, como puede apreciarse, no se corresponde con el real (aproximadamente, 60 días) debido a los factores inherentes a la técnica y por los que se pierde parte importante de la radiactividad inicialmente inyectada. Con todo, el valor del ^{51}Cr T/2 constituye una medida útil en clínica, por cuanto informa sobre la supervivencia de los eritrocitos en la circulación y, a la vez, cuantifica la intensidad con que se realiza dicha eliminación. La determinación de la ^{51}Cr T/2 suele acompañarse de un estudio de la captación del ^{51}Cr marcado por los diferentes tejidos que intervienen en la destrucción eritrocitaria (detecciones externas). Con ello, puede valorarse la contribución de cada tejido a la elimina-

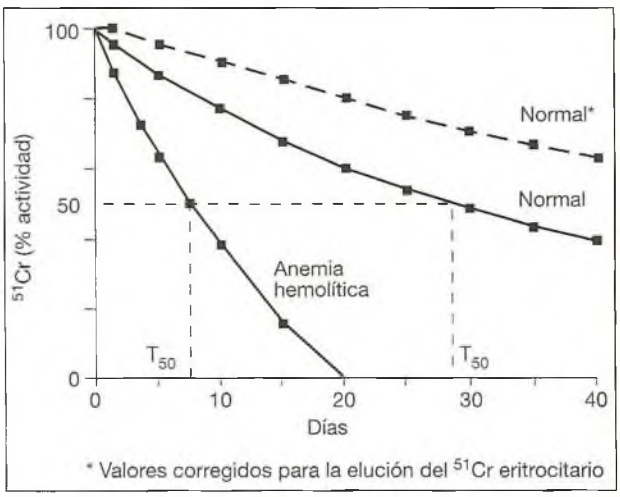


Figura 8.8. Curva característica de la vida media eritrocitaria (en días) determinada mediante eritrocitos del propio paciente marcados con ^{51}Cr. En condiciones normales, la ^{51}Cr T_{50} es de, aproximadamente, 30 días, valor que puede alargarse a 50 días cuando se corrigen los valores de acuerdo con la elucion del ^{51}Cr de los eritrocitos (*línea de puntos*). En una anemia hemolítica se observa un acortamiento de la vida media eritrocitaria que puede llegar a tener valores inferiores a 10 días.

ción y, por tanto, conocer la influencia del bazo o del hígado (células de Kupffer) en el mecanismo fisiopatológico de la anemia (fig. 8.9).

8. **Examen morfológico de la médula ósea.** No se realiza prácticamente nunca como criterio para establecer el diagnóstico de hemólisis excepto en caso de que las pruebas anteriores sean inconsistentes y se requiera para establecer un diagnóstico diferencial. En cualquier caso, la anemia hemolítica se caracteriza por una hiperregeneración celular con un gran aumento del número de eritroblastos, principalmente a expensas de los de tipo ortocromático (fig. 8.10). La hiperplasia eritroblástica crónica condiciona un gran consumo de ácido fólico, por lo que, en ocasiones, es frecuente observar también cierto grado de megaloblastosis (macroblastosis). En caso de eritroblastopenia aguda, se aprecia una desaparición prácticamente total de los precursores eritroides, con algún proeritroblasto gigante de morfología peculiar (fig. 8.4).

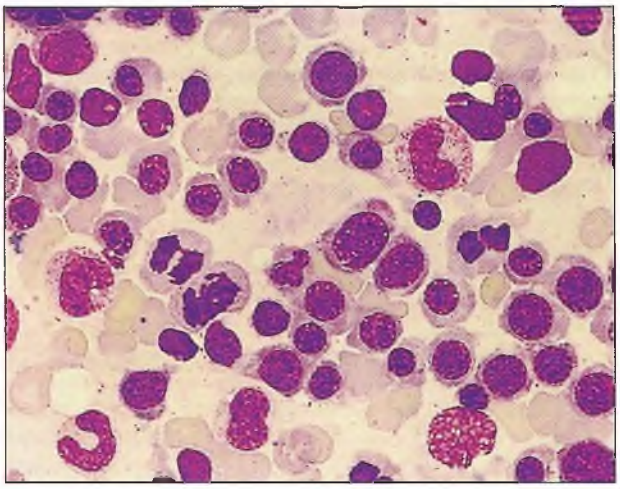


Figura 8.10. Médula ósea de un paciente con anemia hemolítica. Se aprecia una intensa regeneración eritroblástica (MGG ×800 A).

Investigación de la causa de hemólisis

Dada la diversidad de causas que pueden condicionar la existencia de un síndrome hemolítico, la conducta que se debe seguir para alcanzar el diagnóstico etiológico definitivo consiste en el seguimiento de un modelo lógico y secuencial basado en la práctica clínica convencional[3,10]. De acuerdo con ello, la secuencia diagnóstica de un proceso hemolítico debe basarse en dos pilares fundamentales: *a*) la valoración de la historia clínica y los exámenes generales de laboratorio, y *b*) la realización de pruebas específicas encaminadas a averiguar la causa de la hemólisis o diagnóstico etiológico.

Historia clínica

La valoración conjunta de la historia clínica y de las pruebas generales de laboratorio comentadas en el apartado anterior constituye siempre la forma de actuar más adecuada para establecer una orientación diagnóstica del caso y determinar la línea de conducta exploratoria a seguir. Así, en todo proceso hemolítico es muy importante conocer ciertos antecedentes de gran valor, como la ingesta previa de medicamentos o de ciertos alimentos, la existencia de enfermedades que pueden asociarse a hemólisis (paludismo, enfermedad inmune, septicemia, hepatopatía grave, etc.) o la exposición a agentes físicos o químicos capaces de producir hemólisis. La existencia de una historia personal o familiar de anemia o de ictericia neonatal de origen no filiado sugiere una posible causa hereditaria. También hay que tener en cuenta la mayor frecuencia de estos defectos en ciertas razas o procedencias geográficas[3]. Como se ha mencionado en el apartado anterior, los datos aportados por el hemograma o el examen de la morfología eritrocitaria pueden resultar aquí decisivos para realizar una correcta orientación diagnóstica.

En caso de *hemólisis aguda*, intensa y/o acompañada de la emisión de orinas oscuras, puede iniciarse el estudio mediante un conjunto de pruebas que permitirán determinar el carácter intravascular de la hemólisis (tabla 8.5):

1. *Metahemalbúmina (MHA).* En casos de hemólisis intravascular reciente, la presencia de Hb libre en plasma va acompañada de MHA, que es un derivado de la Hb por oxidación. La MHA persiste durante varias semanas después del episodio hemolítico, y junto con la Hpx

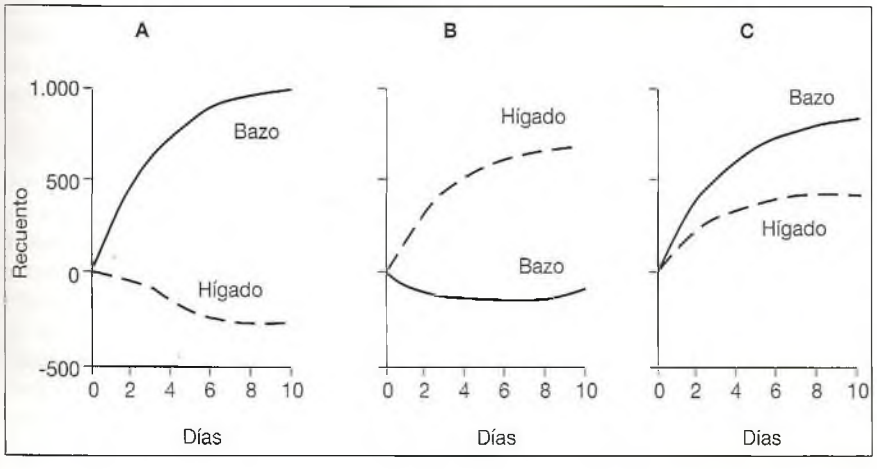


Figura 8.9. Captaciones externas en la anemia hemolítica realizadas al determinar la vida media eritrocitaria. *A.* Hipercaptación esplénica (esferocitosis hereditaria). *B.* Hipercaptación hepática (anemia falciforme). *C.* Hipercaptación hepatoesplénica (anemia hemolítica autoinmune).

TABLA 8.5

Pruebas indicativas de hemólisis intravascular

Prueba	Sensibilidad de mayor valor diagnóstico	Período posthemólisis
Haptoglobina	+ + +	1-2 días
Hemoglobina libre y hemoglobinuria	+/–	1-3 horas
Metahemalbúmina	+/–	2-3 días
Hemosiderinuria	+ + +	7-10 días

confiere al plasma un color pardo o marrón. Puede identificarse bioquímicamente mediante la llamada prueba de Schumm[11].

2. *Hemoglobina libre (HbL.)* Constituye una magnitud del plasma útil en el diagnóstico de hemólisis intravascular. En condiciones normales, la HbL rara vez excede los 0,6 mg/dL, pero cuando supera los 50 mg/dL confiere al plasma un color rojizo característico. Aumentos significativos de HbL (15-60 mg/dL) sólo se observan en casos de hemólisis muy intensa o con marcado componente intravascular. Cuando el valor de HbL excede el umbral de reabsorción renal (> 100 mg/dL), se elimina por la orina y se observa hemoglobinuria. La hemoglobinuria, que suele ir acompañada de albuminuria, debe diferenciarse de la hematuria mediante el examen del sedimento urinario y el análisis espectroscópico de la orina recién emitida.
3. *Hemosiderinuria.* Cuando la hemólisis intravascular tiene carácter crónico, la eliminación de pequeñas cantidades de hemoglobina por el riñón produce, por mecanismos de reabsorción en el túbulo renal, un depósito de hemosiderina en las células del mismo, que puede ponerse en evidencia mediante la tinción de Perls del sedimento urinario (hemosiderinuria). La hemosiderinuria, debido a que no aparece hasta 2-3 semanas después de haberse iniciado una hemólisis intravascular, constituye el mejor criterio para afirmar el carácter crónico o persistente de la misma[7].

Pruebas diagnósticas

Las pruebas para el diagnóstico etiológico de la anemia hemolítica son variadas, como las mismas causas que pueden producirla y, como ya se ha mencionado anteriormente, su selección o protocolización debe basarse siempre en la información aportada por la historia clínica y los exámenes básicos de laboratorio[12-14]. Las más empleadas en la práctica clínica, sin olvidar la realización del estudio familiar, se resumen en la tabla 8.6.

Dada la mayor frecuencia de causas adquiridas, es importante descartarlas siempre en primer lugar. Para ello, pueden emplearse pruebas técnicamente asequibles y de gran valor diagnóstico como, por ejemplo, la prueba de la antiglobulina (PAD) directa o prueba de Coombs, o la «prueba de la hemólisis en medio ácido» o de Ham

TABLA 8.6

Anemia hemolítica: pautas de diagnóstico etiológico

EXAMEN DE LA MORFOLOGÍA ERITROCITARIA
- Esferocitosis hereditaria
- Eliptocitosis congénita
- Anemia falciforme
- Anemia microangiopática
- Paludismo

RECUENTO DE RETICULOCITOS
- Anemias regenerativas

PRUEBA DE LA ANTIGLOBULINA DIRECTA (PAD) O COOMBS DIRECTO
- Anemia hemolítica autoinmune
- Anemia hemolítica medicamentosa de mecanismo inmune

PRUEBA DE HEMÓLISIS EN MEDIO ÁCIDO (HAM-DACIE)
- Hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN)

FRAGILIDAD OSMÓTICA ERITROCITARIA (FOE)
- Esferocitosis hereditaria
- Estomatocitosis congénita
- Xerocitosis congénita
- Talasemias

ELECTROFORESIS DE HEMOGLOBINAS
- Hemoglobinopatías estructurales
- Talasemias

PRUEBAS DE ESTABILIDAD MOLECULAR DE LA HEMOGLOBINA
- Hemoglobinopatías inestables

DETERMINACIÓN DE ENZIMAS ERITROCITARIAS
- Favismo y hemólisis medicamentosa
- Anemia hemolítica crónica no esferocítica

ESTUDIO DE PROTEÍNAS DE MEMBRANA ERITROCITARIA

ESTUDIO FAMILIAR
- Anemias hemolíticas congénitas

Dacie. Si la PAD es positiva, el origen de la hemólisis es inmune y, por tanto, se trata de una anemia hemolítica autoinmune (AHAI). En este caso, procede investigar el tipo de autoanticuerpo responsable. Si es negativa, aunque no excluye por completo una posible AHAI, debe iniciarse un protocolo de estudio encaminado a averiguar otras posibles causas de hemólisis. Si la PAD es negativa, aunque ello no descarta de forma definitiva la posibilidad de una AHAI (AHAI Coombs negativa), deben explorarse otras posibles causas de hemólisis, y si se continúa pensando en su origen adquirido, la demostración *in vitro* de una mayor sensibilidad de los eritrocitos al complemento puede orientar hacia una hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN). La HPN es una forma de anemia infrecuente por defecto adquirido de la membrana eritrocitaria que, en la actualidad, puede ponerse también de manifiesto mediante investigación del déficit de proteínas ligadas a la membrana (de eritrocitos o leucocitos) por grupos fosfatidil inositol (CD55 y CD59, principalmente) mediante citofluorometría[7,13].

Entre las pruebas empleadas para descartar posibles defectos hereditarios del eritrocito destaca, en primer lugar, la «prueba de la fragilidad osmótica eritrocitaria (FOE)», realizada a partir de sangre recién extraída (FOE

directa) y después de su incubación durante 24 horas a 37 °C (FOE incubada). Esta prueba es de gran valor en el diagnóstico de la esferocitosis hereditaria (EH), ya que en prácticamente todos los casos se halla aumentada, especialmente su forma incubada. En general, se acompaña de otra prueba de hemólisis algo más específica, pero quizá menos sensible, que es la prueba del glicerol acidificado (PGA), cuyo resultado suele mantener cierta correlación con el de la FOE incubada. Al igual que en el caso de la PAD, existen formas de EH con FOE prácticamente normal y por ello difíciles de diagnosticar si, además, van acompañadas de una práctica ausencia de esferocitos circulantes. La determinación de la FOE puede complementarse con un estudio básico de hemoglobinas (electroforesis y desnaturalización térmica) y de enzimopatías (glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, piruvato cinasa y glucosafosfato isomerasa). La detección de cualquier alteración sospechosa de defecto hereditario debe acompañarse siempre de la realización de un estudio familiar lo más completo posible. Muchas veces, lo que no puede detectarse en el paciente debido a la interferencia de reticulocitos o transfusiones, puede detectarse en sus progenitores, portadores heterocigotos del posible defecto.

Finalmente, si las pruebas realizadas no son concluyentes sobre el origen de la hemólisis, es aconsejable el concurso de algún centro o red de centros con especialización en el estudio de las anemias de difícil diagnóstico. En este sentido, la Comisión Europea a través de su Dirección General de Salud Pública (SANCO) ha creado una red para facilitar el diagnóstico de estas anemias denominadas «raras». Esta red, conocida con el nombre de ENERCA (European Network for Rare and Congenital Anaemias), puede visitarse en la pagina web www.enerca.org. En un porcentaje relativamente elevado de casos, estas anemias más «raras» pueden diagnosticarse mediante la realización de pruebas bioquímicas, metabólicas o moleculares más complejas como, por ejemplo, un análisis completo de las actividades enzimáticas del eritrocito o de las proteínas de la membrana eritrocitaria mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). La posibilidad de emplear métodos para la medida de la deformabilidad eritrocitaria (ektacitometría), permeabilidad iónica transmembranosa, morfología ultraestructural, cultivos *in vitro* de progenitores hematopoyéticos y caracterización genético-molecular, entre otros, puede ser también de gran valor diagnóstico en los casos más difíciles[8,13,15].

Sistemática a seguir para el diagnóstico de la anemia hemolítica

Para facilitar el estudio de las anemias hemolíticas se utilizó aquí su clasificación en dos grandes grupos: hereditarias y adquiridas, de acuerdo con el siguiente esquema:

1. **Anemias hemolíticas hereditarias:**
   a) Membranopatías.
   b) Enzimopatias.
   c) Hemoglobinopatías.
   d) Talasemias.
2. **Anemias hemolíticas adquiridas:**
   a) Mecanismo inmune.
   b) Mecanismo no inmune.

En este capítulo se estudiarán las membranopatías y enzimopatías del eritrocito como causas de hemólisis hereditaria. Se dejan para los capítulos siguientes el estudio de las otras formas de anemia hemolítica hereditaria (hemoglobinopatías y talasemias) y del conjunto de las anemias hemolíticas adquiridas.

MEMBRANOPATÍAS ERITROCITARIAS

En patología se han descrito defectos proteicos de la membrana eritrocitaria cuya característica común es producir una alteración de la forma y/o deformabilidad del eritrocito[16,17]. Para comprender la fisiopatología de las alteraciones de la forma eritrocitaria en función de los defectos proteicos del esqueleto, se ha propuesto un modelo según el cual las proteínas del mismo presentan dos tipos de interacciones: *horizontales* y *verticales* (fig. 4.3).

Las *interacciones horizontales* son las que establecen las proteínas del esqueleto entre ellas, y son responsables de la estabilidad global del esqueleto. Son de tres tipos: *a*) uniones entre la α y la β-espectrina; *b*) unión entre la β-espectrina y la proteína 4,1, y *c*) unión entre la proteína 4,1 y la actina. La interrupción de estas uniones es causa de eliptocitosis o piropoiquilocitosis hereditarias.

Las *interacciones verticales* son las que se establecen entre la espectrina y las proteínas que unen la espectrina a la doble capa, como la anquirina, la proteína 4,2 y la banda 3. Son también de tres tipos: *a*) unión entre la espectrina, la anquirina y la proteína 4,2; *b*) unión entre la espectrina, la banda 4.1 y la banda 3, y *c*) unión entre la espectrina, la banda 4.1 y algunos segmentos citoplasmáticos de las glicoforinas. La interrupción de las interacciones verticales es causa de esferocitosis hereditaria.

Las membranopatías de mayor interés clínico se clasifican en seis grandes grupos: *a*) esferocitosis hereditaria (EH); *b*) eliptocitosis congénita (EC); *c*) estomatocitosis hereditaria (EsH); *d*) acantocitosis; *e*) equinocitosis, y *f*) codocitosis.

Esferocitosis hereditaria

La esferocitosis hereditaria (EH), conocida también con el nombre de enfermedad de Minkowski-Chauffard, es el tipo de anemia hemolítica congénita más frecuente en los sujetos de raza blanca, y se caracteriza por la presencia, en la extensión de sangre, de eritrocitos esféricos y osmóticamente más frágiles. Su incidencia se ha estimado en 1 por cada 3.000 nacimientos en el norte de Europa, y en 1 por cada 2.000 en el litoral mediterráneo. En otras razas, como por ejemplo la negra, su frecuencia es mucho menor, aunque en la mayoría de casos no se halla aún bien documentada. El cuadro clínico, caracterizado clásicamente por ictericia, anemia con reticulocitosis y esplenomegalia, presenta una intensidad variable desde prácticamente asintomático hasta un cuadro de anemia hemolítica grave, dependiente de transfusiones, o más raramente, hidropesía fetal. Esta variabilidad clínica depende fundamentalmente de la proteína alterada, y del

tipo y localización de la mutación, pero también está influenciada por múltiples factores intragénicos y extragénicos[17]. El defecto proteico más frecuente de EH en la población europea y americana es el déficit de anquirina/espectrina (35-65%), seguido del déficit de banda 3/proteína 4,2 (15-30%) y del déficit aislado de proteína 4,2 (raro en la población europea, pero con elevada prevalencia en Japón). En el 80% de casos, aproximadamente, la EH se transmite con carácter autosómico dominante, mientras que en el 20% restante la transmisión hereditaria es variable (autosómico-recesivas, dominante con escasa penetrancia genética) o esporádica (mutaciones *de novo* en el gen de la anquirina o de la β-espectrina)[16]. Las formas homocigotas de mutaciones dominantes son, probablemente, incompatibles con la vida, por lo que en caso de diagnosticar un caso de EH autosómica-dominante debe procederse a realizar un estudio familiar lo más completo posible acompañado, en su caso, de consejo genético.

Mecanismo molecular

Los estudios moleculares llevados a cabo hasta la actualidad han demostrado que existen diferentes mutaciones que pueden dar lugar al fenotipo de EH pero que, prácticamente siempre, afectan uno de los genes siguientes: *a*) anquirina; *b*) banda 3 o proteína AE1; *c*) espectrina (α o β), y *d*) proteína 4,2 (tabla 8.7).

Déficit de anquirina. Los estudios realizados a nivel molecular por diferentes grupos parecen coincidir en que el déficit primario de anquirina es la causa más frecuente de EH. El déficit de anquirina condiciona como fenómeno secundario un déficit de espectrina que, aunque normal, al no poder unirse a la doble capa lipídica, es degradada. Se han descrito formas dominantes de déficit de anquirina debidas a mutaciones que disminuyen la expresión de un alelo *ANK1*, formas recesivas debidas a mutaciones en la región promotora del gen. Cabe destacar que la disminución de la expresión de uno de los alelos de *ANK1* es frecuente en los casos de pacientes afectados de EH cuyos padres carecen de manifestaciones clínicas o biológicas de la enfermedad, lo que hace pensar que tales casos se traten de mutaciones *de novo*.

Déficit de banda 3. Se observa en el 25%, aproximadamente, de los casos de EH dominante, y obedece a mutaciones del gen *EPB3* con disminución de la estabilidad o

TABLA 8.7

Mecanismo molecular de la esferocitosis hereditaria

DÉFICIT DE ANQUIRINA (ANK)	
Frecuencia:	40-50%
Patrón electroforesis SDS-PAGE (Fairbanks):	↓ anquirina (15-20% o > 50%) ↓ espectrina (20-30%) ↓ proteína 4,2 (15-20%)
Mecanismo molecular más frecuente	Defectos de transcripción Mutaciones en región promotora
Expresividad	Esferocitosis intensa
DÉFICIT DE BANDA 3 (EPB3)	
Frecuencia:	20-30%
Patrón electroforesis SDS-PAGE (Laemmli):	↓ banda 3 (20-30%) ↓ proteína 4,2 (20-40%)
Mecanismo molecular más frecuente	Mutaciones del fragmento citoplasmático
Expresividad	Esferocitos y eritrocitos «pinzados» Acidosis tubular
DÉFICIT DE β-ESPECTRINA (SPTB)	
Frecuencia:	10-15%
Patrón electroforesis SDS-PAGE (Fairbanks)	↓ Sp (20-30%)
Mecanismo molecular más frecuente	Mutaciones del codón de iniciación
Expresividad	Equinocitos y acantocitos
DÉFICIT DE α-ESPECTRINA (SPTA1)	
Frecuencia:	5-10%
Patrón electroforesis SDS-PAGE (Fairbanks):	↓ Sp (> 50%)
Mecanismo molecular más frecuente	Mutación puntual/gen «LEPRA»*
Expresividad	Intensa esferocitosis
DÉFICIT DE PROTEÍNA 4,2	
Frecuencia:	Frecuente en Japón
Patrón electroforesis SDS-PAGE (Laemmli):	↓ proteína 4,2 (80-100%)
Mecanismo molecular más frecuente	Mutaciones puntuales
Expresividad	Esferocitos

*Coexistencia de una mutación puntual con el gen de baja expresividad LEPRA (*Low Expression gene PRACA*) en posición *trans*.

de la capacidad de unión de la banda 3 a la bicapa lipídica. Las formas recesivas de déficit de banda 3 se han observado con mayor frecuencia en casos de mutaciones del gen *EPB3* que afectan al dominio citoplasmático de la banda 3. Al parecer, estas formas contribuyen a agravar la expresividad clínica cuando se sitúan en posición *trans* con respecto a mutaciones de otros dominios. Clínicamente, el déficit de banda 3 se caracteriza por un síndrome hemolítico, relativamente bien compensado, y el análisis electroforético de las proteínas de membrana mediante PAGE-SDS muestra una disminución moderada de la banda 3 (25%, aproximadamente) que va acompañada de una disminución simultánea y proporcional de la proteína 4,2.

Déficit de espectrina. El déficit aislado de espectrina obedece, generalmente, a mutaciones del gen de β-espectrina (*SPTB*) y se asocia a EH dominante con expresividad clínica moderada o leve. Las mutaciones en el gen de α-espectrina (*SPTA1*), generalmente asociadas con EH recesiva, presentan mayor expresividad clínica y son, generalmente, graves en homocigotos. Por ello, como criterio práctico puede admitirse que más del 50% de los pacientes con EH y anemia hemolítica intensa son portadores de un déficit de α-espectrina que puede ponerse fácilmente de manifiesto mediante el estudio electroforético de proteínas de membrana (disminución de, aproximadamente, el 30% de α-espectrina). Recientemente, se ha comprobado que un elevado porcentaje de estos pacientes tienen la variante α-espectrina IIa (Ala969Asp, espectrina Bughill o α-espectrina^{BH}), un polimorfismo en *linkage disequilibrium* con la variante α-espectrina^{LEPRA} que resulta de un *splicing* alternativo en el intrón 30. El alelo de la α-espectrina^{LEPRA} produce muchas menos cadenas α que un alelo normal, y si bien en estado heterocigoto carece de expresividad clínica, cuando se halla en estado homocigoto o posición *trans* con otro alelo mutado da lugar a un síndrome hemolítico grave[18,19].

Déficit de proteína 4,2. El déficit de proteína 4,2 se hereda con carácter autosómico recesivo, y obedece a mutaciones en el gen *ELB4.2* o bien del gen *EPB3* en la secuencia que codifica el *locus* de unión de la proteína 4,2 al dominio citoplasmático de la banda 3.

Fisiopatología

El defecto proteico de membrana que origina la EH debilita la unión del esqueleto a la doble capa lipídica (pérdida de interacciones verticales) y disminuye su estabilidad, con formación de microvesículas y pérdida de material lipídico. Como consecuencia de ello, disminuye la relación entre la superficie y el volumen, y el eritrocito adquiere forma esférica (esferocito). Junto con ello, existe también una manifiesta alteración de la permeabilidad iónica, especialmente al sodio, pero también al potasio[20]. En la fisiopatología de la esferocitosis hereditaria intervienen dos factores: *a*) los trastornos debidos al defecto molecular que inducen a la formación de microvesículas, y *b*) el efecto filtro del bazo.

En el déficit primario de espectrina, de anquirina o de proteína 4,2 se produce una desestabilización de la bicapa lipídica, con formación de vesículas que contienen banda 3; y en el déficit primario de banda 3, al desaparecer el efecto estabilizador de la banda 3 las vesículas carecen de ella.

Los esferocitos resultantes del trastorno molecular presentan una disminución de la relación superficie/volumen (S/V) y, por tanto, son prácticamente indeformables comparados con los discocitos normales. Al mismo tiempo, se produce una activación de los sistemas de transporte iónico que disminuyen el contenido de potasio (K) intraeritrocitario y agua. Como resultado, la pérdida de membrana y la deshidratación aumentan la concentración corpuscular media de hemoglobina (CCMH > 350 g/L) que, junto con la alteración de forma, impiden que el eritrocito pueda deformarse suficientemente para atravesar el filtro esplénico. Debido a ello, los eritrocitos esféricos y densos (microesferocitos) quedan atrapados masivamente en la pulpa roja del bazo al no poder pasar desde los cordones a los senos venosos (fig. 8.11). La eritroestasis constituye, de hecho, el mecanismo fisiopatológico último y definitivo de la hemólisis en la EH, ya que, al dificultar el aporte de glucosa a los eritrocitos retenidos, impide el aumento de la glucólisis necesaria para contrarrestar el defecto funcional de la membrana acompañante (aumento del transporte iónico). De esta forma, se favorece aún más la esferocitosis y la aparición de señales líticas, que terminan con la eliminación de estas células por el SMF.

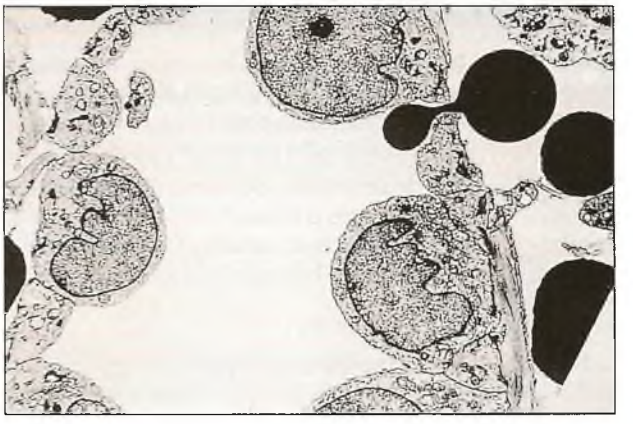


Figura 8.11. Filtro esplénico observado mediante microscopio electrónico de transmisión (MET). Obsérvese un eritrocito atravesando el espacio intercelular existente entre la pulpa roja (*exterior*) y la luz de un sinusoide (*interior*).

Manifestaciones clínicas

La EH presenta un cuadro clínico de intensidad variable, aunque caracterizado siempre por signos de hemólisis con o sin anemia (tabla 8.8). La sintomatología suele aparecer durante las primeras décadas de la vida, y rara vez en la edad adulta. En el 40-50% de casos existe, no obstante, el antecedente de hemólisis neonatal. En los individuos adultos, las formas clínicas de EH se clasifican según la intensidad de la anemia en leve, moderada y grave.

Forma leve de EH. Se observa en el 20-30% de pacientes con EH autosómica dominante. Constituye la forma más difícil de diagnosticar, ya que la anemia es prácticamente inexistente (hemólisis compensada), al igual que la esplenomegalia. Estos casos suelen ir acompañados de

TABLA 8.8

Formas clínicas de esferocitosis hereditaria

AUTOSÓMICA DOMINANTE
EH común (60%)
Anemia moderada
Esplenomegalia discreta
EH asintomática (25%)
Hemólisis compensada
Esplenomegalia discreta o ausente
EH con acantocitosis (10%)
Anemia (Hb 90-110 g/L)
Esplenomegalia discreta
Acantocitosis
EH con anemia intensa (5%)
Anemia (Hb < 90 g/L)
Esplenomegalia gigante
Requerimiento transfusional
Complicaciones del síndrome hemolítico crónico
AUTOSÓMICA RECESIVA
EH con anemia ligera (rara en la raza blanca)
Estado homocigoto o doble heterocigoto
EH con anemia intensa
Estado homocigoto o doble heterocigoto
Esplenomegalia gigante
Requerimiento transfusional
Complicaciones del síndrome hemolítico crónico

subictericia conjuntival, por lo que muchas veces pueden confundirse con la enfermedad de Gilbert. Por ello, el diagnóstico de esta forma de EH requiere muchas veces el hallazgo fortuito de un moderado aumento del número de reticulocitos circulantes o litiasis biliar. En este caso, la realización de un minucioso estudio familiar permite hallar parientes con signos biológicos, o incluso clínicos, de la enfermedad.

Forma moderada de EH. Se observa en el 60-75% de todos los casos, y se caracteriza por una anemia discreta o leve, ligera esplenomegalia e ictericia intermitente. El estudio familiar contribuye también aquí de forma decisiva al diagnóstico.

Forma grave de EH. Es menos frecuente que las anteriores y aparece en sólo el 5%, aproximadamente, del total de casos. Clínicamente, se caracteriza por anemia hemolítica intensa, subsidiaria de transfusiones, ictericia y esplenomegalia palpable. Ocasionalmente, pueden observarse también alteraciones del desarrollo óseo (alargamiento de los huesos frontal y parietal, y cráneo «en cepillo»), y una incidencia relativamente elevada de malformaciones óseas (polidactilia, epicanto, etc.). En casi todos los casos, esta forma clínica de EH presenta un patrón hereditario autosómico recesivo.

Todas las formas clínicas de EH pueden verse agravadas por crisis de eritroblastopenia aguda o por la aparición de úlceras maleolares que sólo curan con la esplenectomía. La crisis de eritroblastopenia por sobreinfección del parvovirus humano B19 parece ser algo más frecuente en la EH que en otras formas de anemia hemolítica congénita[23] y cuando se examina la médula ósea destaca la existencia de células de Gasser[7] (fig. 8.4).

Un elevado número de pacientes con EH tienen el antecedente de anemia e ictericia neonatal, que suele aparecer hacia el segundo o tercer día de vida. En general, se trata de situaciones relativamente graves, con cuadros de hemólisis intensa e ictericia que, en ocasiones, requiere fototerapia para disminuir los niveles de bilirrubina o una exsanguinotransfusión para evitar el *kernicterus*. Ello produce gran inquietud en médicos y familiares por las dificultades que entraña el diagnóstico de EH durante el período neonatal, ya que además de lo difícil que resulta establecer el diagnóstico diferencial con una incompatibilidad ABO con prueba de la antiglobulina directa negativa, la esplenomegalia resulta difícil de explorar, y las pruebas diagnósticas resultan enmascaradas por el frecuente requerimiento transfusional. Éste debe practicarse siempre que la concentración de hemoglobina sea inferior a 55 a 65 g/L, lo que hace prácticamente imposible realizar pruebas diagnósticas tan importantes en el diagnóstico de EH como un examen morfológico de los eritrocitos o un estudio de la FOE. Hay que tener en cuenta, además, que los eritrocitos fetales, en relación con los del adulto, son osmóticamente más resistentes en la preincubación y más frágiles en la postincubación. Asimismo, el hecho de que en algún caso el número de reticulocitos sea inferior al esperado para el grado de anemia es un índice de la escasa capacidad de respuesta de la médula ósea durante el período neonatal. La posibilidad de estudiar a los padres es una opción, pero debido a la elevada frecuencia de mutaciones esporádicas, éstos suelen carecer de manifestaciones clínicas. Este proceso es autolimitado, y va disminuyendo conforme avanza el tiempo, hasta que se van normalizando las constantes hematológicas.

Los factores que desencadenan las manifestaciones neonatales de la EH no están completamente aclarados, pero podrían estar relacionados con la poca capacidad del hígado para conjugar la bilirrubina y con la elevada concentración de 2,3-DPG libre en las células fetales, que haría desestabilizar las uniones espectrina/actina/proteína 4,1.

Diagnóstico

El diagnóstico de EH no es siempre fácil y se basa, fundamentalmente, en el examen de la morfología eritrocitaria, el análisis de la fragilidad osmótica (FOE) y un estudio familiar lo más completo posible. Junto con ello, también es muy importante una adecuada valoración de los datos aportados por el hemograma (índices eritrocitarios) y el recuento de reticulocitos. Otras técnicas para el estudio de la EH como, por ejemplo, la medida de la deformabilidad eritrocitaria mediante ektacitometría o el análisis cuantitativo de las proteínas de membrana, sólo se hallan al alcance de laboratorios especializados.

Examen de la morfología eritrocitaria. Exige siempre el empleo de extensiones de sangre muy bien realizadas y correctamente teñidas. En casi todos los casos, revela la presencia de un número variable de esferocitos que se ponen de manifiesto por su menor tamaño y la desaparición del halo claro central, característico de los discocitos (fig. 8.12). El porcentaje de esferocitos circu-

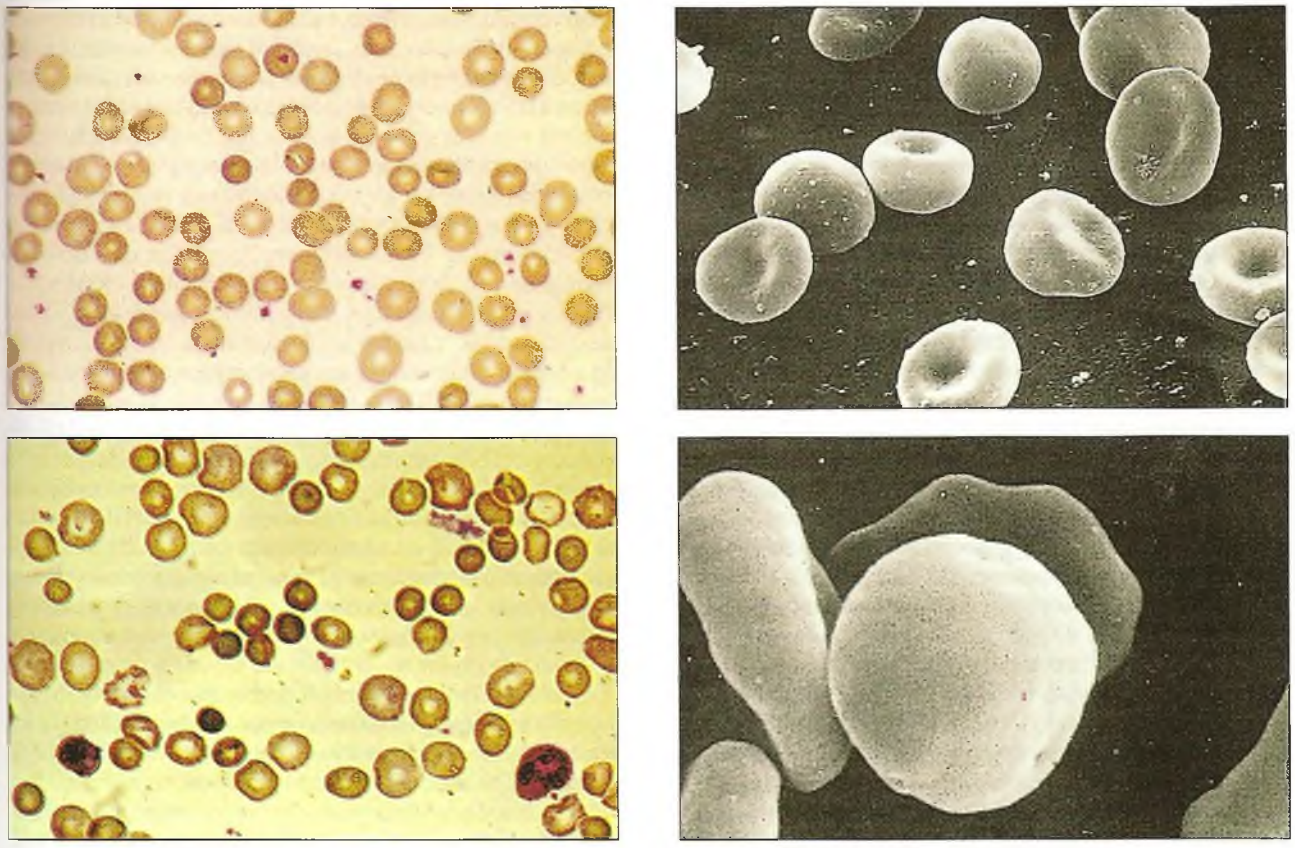


Figura 8.12. Estudio morfológico de sangre periférica en la esferocitosis *Línea superior. Izquierda*: examen convencional del frotis (MGG ×800) en un paciente con esferocitosis hereditaria (EH). Apréciense algunos esferocitos o eritrocitos más pequeños y con coloración más intensa. *Derecha:* imagen de esferoestomatocitos (y algún esferocito) de la misma muestra observada mediante microscopio electrónico de barrido (MEB). *Línea inferior. Izquierda*: examen convencional del frotis (MGG ×800) en un paciente con anemia hemolítica autoinmune (AHAI). Se aprecian más esferocitos que en la EH y su tamaño es algo menor (microesferocitos). *Derecha*: examen de la misma muestra mediante el MEB. Apréciese un típico esferocito (*derecha*).

lantes es muy variable, siendo escaso (3-5%) en las formas leves y algo más elevado (25-30%) en las formas moderadas. Algunos autores señalan que en la forma de EH autosómica dominante, y especialmente en la debida al déficit de banda 3, es frecuente observar eritrocitos con un estrangulamiento en una zona de su citoplasma que les confiere una forma de seta (eritrocitos «pinzados») (fig. 8.13). En las formas más graves, los esferocitos se mezclan con otras alteraciones morfológicas, como los dacriocitos y acantocitos. Mediante microscopio electrónico de barrido (MEB) se ha demostrado que en la EH existe un aumento significativo de las formas de la transformación discocito-estomatocito-esferocito[16].

Análisis de los índices eritrocitarios. Constituye el complemento natural del examen morfológico ya que suele mostrar junto a una ligera disminución del VCM debida a la microesferocitosis, un aumento significativo de la CCMH (> 350 g/L). Este aumento de CCMH es prácticamente constante en la EH, incluso en presencia de marcada reticulocitosis, y los analizadores hematológicos automatizados que determinan directamente esta magnitud[24] muestran un porcentaje de eritrocitos con CCMH > 400 g/L o hipercrómicos superior al normal. Al valorar el VCM en la EH no debe olvidarse que en la población infantil este valor es algo inferior al del adulto.

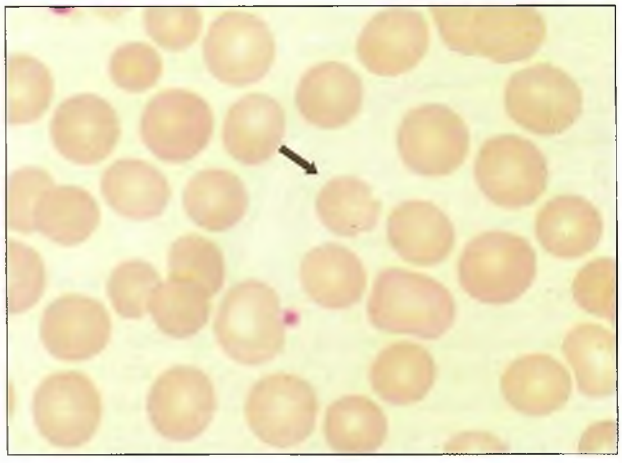


Figura 8.13. Imagen característica de un eritrocito «pinzado» (*flecha*) tal como se observa en la esferocitosis eritrocitaria donde suelen hallarse en proporción algo superior al 0,5% del total de eritrocitos.

Pruebas de fragilidad osmótica. Ponen de manifiesto la escasa resistencia que muestran los esferocitos a la entrada de agua en su interior[25]. Ello obedece a que los esferocitos, en comparación con los eritrocitos normales, tienen menos capacidad de hidratación, y cuando se someten a

medios hipotónicos hemolizan antes. La prueba más empleada en la práctica clínica es la llamada «fragilidad osmótica eritrocitaria» (FOE), consistente en incubar los eritrocitos de sangre recién extraída (prueba inmediata) y después de 24 horas y a 37 °C (prueba incubada), en un gradiente de soluciones salinas (NaCl) hipotónicas y medida del grado de hemólisis en cada una de ellas. En condiciones normales, la hemólisis de los eritrocitos sin incubar (prueba inmediata) se inicia a la concentración de 5,0 g/dL de NaCl, y es prácticamente total a 3,5 g/dL, mientras que en los eritrocitos incubados (prueba incubada) estos valores son de 6,0 g/L y 4,0 g/L, respectivamente (fig. 8.14). Estos valores suelen expresarse bajo forma de hemólisis inicial y de hemólisis al 50% (H_{50}) o como concentración de NaCl en la que se ha producido la hemólisis del 50% de los eritrocitos. El valor de la H_{50} informa sobre el comportamiento global de la población eritrocitaria frente a la hipotonía del medio, y su valor normal oscila entre 3,6 y 4,2 g/dL (prueba inmediata), y 4,5 y 5,2 g/dL (prueba incubada). En la práctica clínica, la prueba incubada es más sensible que la inmediata, y es positiva en casi el 100% de los casos de EH. No obstante, existen factores diversos que pueden influenciar la prueba de la fragilidad osmótica y hacer difícil su interpretación. Entre ellos destacan la reticulocitosis, especialmente cuando es muy intensa, y la coexistencia de hipocromía. Los reticulocitos, al tener menor fragilidad osmótica que los eritrocitos maduros, pueden enmascarar su aumento, especialmente cuando se emplea sangre sin incubar (prueba inmediata). Asimismo, la hipocromía, generalmente debida a ferropenia, disminuye la fragilidad osmótica de los eritrocitos y puede enmascarar un posible aumento[8]. En este caso, la adecuada valoración de esta prueba exige la previa normalización del estado del hierro.

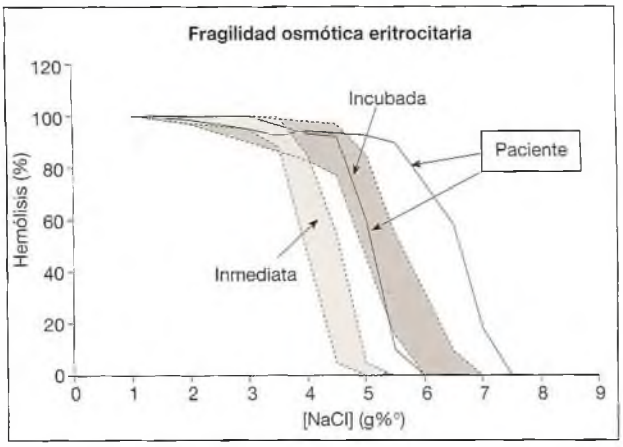


Figura 8.14. Curva de fragilidad osmótica eritrocitaria (FOE). En caso de esferocitosis, la curva de FOE tanto inmediata como incubada presenta un desplazamiento característico hacia la derecha. Las curvas con coloración de fondo corresponden a los límites de referencia para la inmediata (blanco) e incubada (gris).

Otras pruebas. Algunos autores complementan la prueba de fragilidad osmótica eritrocitaria con otras pruebas de fundamento similar, como la prueba de la autohemólisis, de la lisis en glicerol acidificado (PLGA) y de la criohemólisis hipertónica (PCHH). La prueba de la autohemólisis, aunque específica, es mucho más engorrosa que la prueba incubada de fragilidad osmótica, por lo que en la actualidad apenas se utiliza. La PLGA se basa en la medida del tiempo (en segundos) que tarda en iniciarse la hemólisis cuando los eritrocitos se incuban en una solución acidificada de glicerol. Su valor normal es siempre superior a 1.800 segundos, y su especificidad parece ser algo superior a la de la prueba inmediata de fragilidad osmótica, pero no a la prueba incubada. Además, la PLGA debe realizarse en condiciones muy precisas, lo que aumenta el porcentaje de resultados falsamente positivos o negativos y limita su utilidad real en la práctica clínica[8,14]. La prueba de la criohemólisis hipertónica (PCHH) se define como la lisis de los eritrocitos en un medio hipertónico cuando la temperatura del mismo es inferior a 15 °C[25]. Aunque el mecanismo preciso de este efecto se desconoce, la realidad es que los eritrocitos son especialmente frágiles en estas condiciones. Algunos autores consideran que la PCHH es tan sensible como la prueba incubada de fragilidad osmótica, pero más específica, ya que no resulta enmascarada por otros factores diferentes a la EH capaces de alterar la relación normal entre superficie y volumen eritrocitarios.

El estudio de la deformabilidad eritrocitaria constituye hoy día el mejor procedimiento para el diagnóstico de los trastornos de membrana eritrocitaria[16]. Para ello puede emplearse el *ektacitómetro* con gradiente de osmolaridad, que evalúa fundamentalmente la deformabilidad y la fragilidad de la membrana y permite, en función del patrón electroforético, deducir el tipo de proteína alterada. El ektacitómetro mide el índice de deformabilidad eritrocitaria (IDE) que, al parecer, constituye una magnitud muy sensible para la detección de esferocitos circulantes, incluso cuando se hallan en un porcentaje muy pequeño. Es una tecnología compleja y de elevado coste, por lo que sólo se utiliza en casos de difícil diagnóstico y como procedimiento de investigación.

La electroforesis de proteínas de membrana del eritrocito en gel de poliacrilamida y en presencia de dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE) constituye un buen método para apreciar la movilidad (patrón electroforético) y proporción de las diferentes proteínas. Esta técnica permite detectar un defecto de membrana en, aproximadamente, el 60% de casos de EH, especialmente en caso de déficit de banda 3 y de proteína 4,2, y algo menos en caso de déficit de espectrina y anquirina. En el déficit primario de espectrina existe una disminución aislada de la espectrina, mientras que en el déficit primario de anquirina, debido a sus multiples isoformas, puede observarse una disminución de anquirina acompañada de espectrina. Mediante PAGE-SDS, la proteína 2,1 es la que se observa con más facilidad, aunque es frecuente observar también fracciones más débiles y rápidas que ella, resultado de su proteólisis (proteínas 2,2, 2,3, 2,6). Este fenómeno se observa fundamentalmente en casos de intensa reticulocitosis. Igualmente, la existencia de una intensa reticulocitosis puede enmascarar un déficit de anquirina, el cual sólo se detecta después de la esplenectomía. Como criterio práctico, puede decirse que la reticulocitosis produce un predominio de la proteína 4,1b sobre la 4,1a.

La citometría de flujo mediante fluorocromos de eosina-5-maleimida que se unen a la banda 3 es un proce-

dimiento que se ha empleado recientemente para estudiar algunos casos de EH. En caso de déficit de banda 3, se aprecia una disminución de la intensidad de fluorescencia eritrocitaria, que facilita el diagnóstico en casi todos los casos[22].

Puede concluirse que la gran mayoría de los pacientes con EH siguen siendo diagnosticados mediante los tres criterios clásicos: *a*) historia clínica (ictericia y esplenomegalia); *b*) morfología eritrocitaria (esferocitosis), y *c*) pruebas de FOE. Todos los otros procedimientos son de gran utilidad, pero sólo como complemento y ayuda diagnóstica en aquellos casos en los que los criterios básicos no son suficientemente informativos.

Tratamiento

El tratamiento de la EH se refiere únicamente a la posibilidad de eliminar el lugar de destrucción eritrocitaria, es decir, el bazo. En consecuencia, el tratamiento de elección en la EH es la esplenectomía. En los pacientes con hemólisis compensada, la esplenectomía puede posponerse, excepto en caso de que se observen importantes complicaciones de la hemólisis. En cualquier caso, siempre es conveniente proteger las reservas de folato mediante la administración de un suplemento de ácido fólico en la dieta (1 mg/día) durante intervalos de 6 meses.

Cuando existe intensa anemia, esplenomegalia y la posibilidad de que con los años aparezcan las típicas complicaciones del síndrome hemolítico, es aconsejable la esplenectomía. Después de practicada, la anemia, la reticulocitosis y la hiperbilirrubinemia disminuyen significativamente, pudiendo llegar a desaparecer por completo. Obviamente, los esferocitos persisten, aunque su vida media en la circulación es prácticamente igual a la de los eritrocitos normales. El volumen corpuscular medio (VCM) aumenta, la CCMH disminuye ligeramente y la FOE continúa aumentada, pero sin la prolongación del extremo de la curva que estaba originada por las células osmóticamente más frágiles. En niños y adultos jóvenes con EH y litiasis biliar se recomienda practicar una colecistectomía con esplenectomía, aprovechando la misma intervención. Durante algún tiempo se preconizó la esplenectomía parcial para evitar en lo posible el riesgo de sepsis postesplenectomía, pero la elevada capacidad regenerativa del tejido esplénico puede hacer que algunos años después de la intervención reaparezca el proceso hemolítico.

El riesgo de sepsis postesplenectomía es elevado durante la primera infancia, por lo que es aconsejable la extracción del bazo después de los 5 años de edad, y nunca antes de los 3, incluso en casos dependientes de transfusiones. El riesgo es mayor en los años inmediatamente posteriores a la esplenectomía, pero persiste a lo largo de la vida, y el paciente y la familia deben ser educados sobre los cuidados que deben tener en cuenta. La profilaxis con antibióticos y el tratamiento antibiótico precoz de los síndromes febriles en pacientes esplenectomizados disminuye notablemente la incidencia de infecciones por neumococos. Se recomienda la profilaxis mensual con penicilina-benzatina intramuscular o con penicilina V en dosis de 125 mg oral dos veces al día en los niños con menos de 7 años de edad, y 250 mg oral dos veces al día en los niños mayores de 7 años y en los adultos, durante por lo menos 5 años después de la esplenectomia, o durante toda la vida. En pacientes alérgicos a la penicilina, ésta se sustituirá por eritromicina. En caso de estirpes de neumococos resistentes a la penicilina, debe emplearse la ceftriaxona. Después de la esplenectomía debe mantenerse un control periódico del paciente, de forma que siempre que aparezca un síndrome febril es aconsejable profilaxis con penicilina. En caso de esplenectomía, una medida preventiva es la administración de vacuna polisacarídica neumocócica (*Pneumo 23** o *Pneumovax 23**) dos o tres semanas antes de la intervención quirúrgica. Esta vacuna confiere inmunidad frente al 90% de las estirpes de neumococo, siempre que se administre después de los 5 años. Antes de esta edad, puede usarse vacuna conjugada neumocócica *Prevnar**, y revacunación con *Pneumo 23** o *Pneumovax 23** con revacunación tres años después*.

Las vacunas de *Haemophilus influenzae, Neisseria meningitidis* y *Meningococcus* también deben ser administradas a todos los pacientes esplenectomizados.

Finalmente, aunque en la EH no parece existir riesgo de trombosis, es recomendable la administración de pequeñas dosis de ácido acetilsalicílico (AAS) a partir de la cuarta o quinta décadas de la vida.

Eliptocitosis congénita

La eliptocitosis congénita (EC) es otra membranopatía en la que la alteración característica de la forma eritrocitaria (ovalada o elíptica) constituye, aún hoy día, el principal criterio diagnóstico (fig. 8.15). Esta enfermedad se transmite con carácter autosómico dominante, y su frecuencia se sitúa alrededor de 1 caso por cada 5.000 nacimientos. En el África ecuatorial, su frecuencia varía entre el 0,6 y el 1% de la población, y en el Sudeste asiático (raza melanesia) supera el 30% de la población aborigen, hecho que se atribuye a la presión genética positiva ejercida por el paludismo, endémico en esta región geográfica[17]. La incidencia de EC en la población española se desconoce, aunque tomando como ejemplo otros países del área mediterránea podría situarse alrededor del 0,3%, es decir, sensiblemente superior a la del norte de Europa. Al igual que la EH, la EC se caracteriza por un notable polimorfismo clínico, genético y molecular.

Mecanismo molecular

La base molecular de la EC es una inestabilidad del esqueleto de la membrana secundaria a defectos en la α-espectrina, β-espectrina, proteína 4,1 o GPC (tabla 8.9). Todas ellas tienen un efecto común sobre la membrana eritrocitaria que consiste en impedir que la espectrina pueda asociarse para formar tetrámeros (defecto de tipo horizontal), con lo que el eritrocito pierde capacidad para recuperar su forma normal después de una deformación longitudinal[12].

El *déficit de α-espectrina* afecta alrededor del 60% de pacientes con EC, y obedece a mutaciones del gen *SPTA1* que modifican las zonas de unión entre los dímeros de espectrina. Debido a ello, los dímeros se desesta-

*Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) http://www.cdc.gov/nip/publications/ACIP-list.htm.

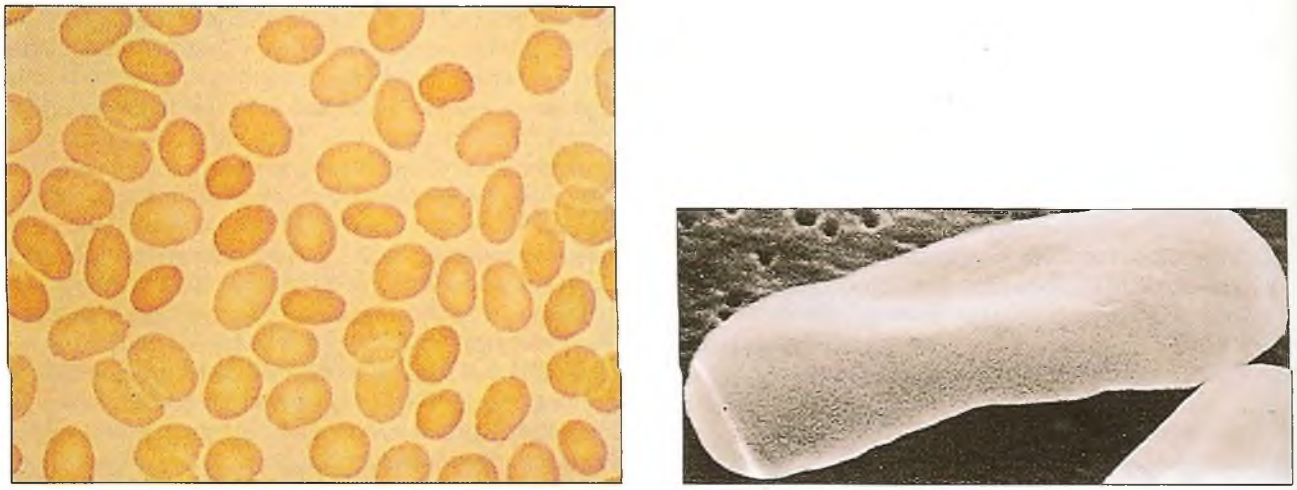


Figura 8.15. Examen morfológico de sangre periférica de un paciente con eliptocitosis congénita (EC). *Imagen izquierda:* frotis de sangre teñido con May-Grünwald-Giemsa (MGG ×800). *Imagen derecha:* eliptocito observado mediante el microscopio electrónico de barrido (MEB).

TABLA 8.9

Mecanismo molecular de la eliptocitosis congénita con algunos ejemplos de mutaciones descritas y su expresividad clínica

Denominación		Mutación*	Clínica
DEFECTOS DE α-ESPECTRINA			
Sp $\alpha^{I/65}$	SpD-SpD	154 (duplicación)	EC Intensa
Sp $\alpha^{I/50}$	SpD-SpD	$469^{His\text{-}Pro}$ Sp Barcelona*	PPC
Sp $\alpha^{I/78}$	SpD-SpD	$41^{Arg\text{-}Tre}$ Sp Túnez*	EC Común
DEFECTOS DE β-ESPECTRINA			
-Sp β LePuy	SpD-SpD	Traducción	EC Común
-Sp β Nice	SpD-SpD	Traducción	EC Intensa
DEFECTOS DE PROTEÍNA 4,1			
$4{,}1^{68/65}$ (↓ PM)	Sp-Actina	240 (duplicación)	EC Común
$4{,}1^{0}$ (Déficit)	Sp-Actina	Transcripción	EC Intensa
DÉFICIT DE GLICOFORINA C			
-GPC^{0}	Sp-Actina	Traducción	Fenotipo Leach

*Mutaciones puntuales asociadas a un gen de baja expresividad *LELY* (*Low Expression gene LYON*) en posición *trans*.
PPC: piropoiquilocitosis.

bilizan y pierden su capacidad para formar tetrámeros. Su forma de transmisión hereditaria es autosómica dominante, y la expresividad clínica puede variar desde el estado asintomático (eliptocitosis simple) hasta la anemia moderada (poiquilocitosis) o muy intensa (poiquilocitosis con esferocitosis). Las mutaciones de α-espectrina más frecuentes son la $Sp\alpha^{I/74}$ y la $Sp\alpha^{I/65}$. En la raza negra, destaca la variante $Sp\alpha^{I/46}$, especialmente extendida por el norte de África, aunque también se ha detectado en individuos de raza caucásica[18,19]. Una misma mutación puede hallarse asociada con cuadros clínicos de intensidad variable, debido a la herencia asociada de alelos de baja expresión. El más frecuente es el polimorfismo $Sp\alpha^{V/41}$ conocido como alelo α^{LELY} y que presenta una frecuencia génica estimada del 20-30% en algunos grupos étnicos. El alelo α^{LELY} es silente en estado homocigoto, pero cuando se asocia con una mutación estructural del gen α-espectrina, empeora el fenotipo si ocurre en *trans*, y lo mejora cuando se produce en *cis*. Otros alelos de baja expresión, conocidos como alelos *thalassaemia-like*, sintetizan una menor cantidad de α-espectrina por disminución de la síntesis de mRNA y, cuando se encuentran en *trans* con una mutación α-espectrina, producen un fenotipo de EC con hemólisis crónica intensa o piropoiquilocitosis hereditaria (PPH) (tabla 8.10).

El *déficit de β-espectrina es* mucho menos frecuente que el anterior, y las mutaciones se hallan situadas en el gen *SPTB*. Su forma de transmisión hereditaria también es autosómica dominante y su expresividad clínica es variable. En general, son mutaciones *de novo*, cuya consecuencia es una alteración de la traducción del mRNA por mutación *frameshift*, y cese precoz de la síntesis proteica[26,27].

TABLA 8.10

Efecto del gen α^{LE} en la expresividad clínica de la eliptocitosis congénita

Normal	Portador asintomático o eliptocitosis	Eliptocitosis o piropoiquilocitosis
α/α^{LE}	α/α^{EC}	α^{EC}/α^{EC}
α^{LE}/α^{LE}	α^{EC}/α	α^{EC}/α^{LE}

El *déficit de proteína 4,1* es el segundo en frecuencia después del de α-espectrina, y se observa en, aproximadamente, el 20-30% de casos de EC en poblaciones europeas y de raza árabe, pero no en las de raza negra. Su herencia es autosómica dominante, y su forma heterocigota es asintomática, con abundantes eliptocitos circulantes y ausencia de alteraciones de la FOE. Los homocigotos presentan un cuadro de hemólisis crónica moderada o intensa con un porcentaje de casi el 100% de eliptocitos y ovalocitos circulantes. Las mutaciones del gen *SPTA1* son heterogéneas, ya que en el control de la síntesis de la proteína 4,1 intervienen procesos tipo *splicing* alternativo, con aparición de diferentes isoformas.

El *déficit de glicoforina C (GPC)* es muy raro y, en general, se asocia con una disminución simultánea de proteína 4,1, dado que ambas proteínas se estabilizan mutuamente. El déficit completo de GPC o fenotipo Leach (eritrocitos sin antígeno Gerbich), se caracteriza por una anemia hemolítica moderada con eliptocitosis. Obedece a una mutación tipo *frameshift* del codón 45, y se hereda con carácter autosómico recesivo. La EC suele estar asociada con los grupos sanguíneos Rh y Duffy, cuyos genes se localizan en el cromosoma 1. El locus del grupo Duffy (1q21-q22) está cerca del gen *SPTA1* y el locus Rh (1p36.2-p34) está junto al gen *EPB41*[20].

Manifestaciones clínicas

La expresividad clínica de la EC es prácticamente superponible a la EH, aunque es muy probable que el porcentaje de casos leves o asintomáticos sea algo superior. Desde un punto de vista práctico, la EC puede clasificarse en cuatro grandes grupos (tabla 8.11): *a*) EC común de expresividad clínica variable; *b*) EC esferocítica cuya expresividad es una mezcla de EC y EH (v. EH), y *c*) ovalocitosis del sudeste asiático (SEA).

Eliptocitosis congénita común (ECC)

La ECC es la variante de EC más frecuente, y sus manifestaciones pueden presentar diferente grado de intensidad. De acuerdo con ello, pueden distinguirse hasta cinco formas clínicas diferentes: asintomática, leve, con hemólisis esporádica, con hemólisis intensa y piropoiquilocitosis congénita (PPC).

1. *Asintomática.* Su detección es del todo imposible en sujetos portadores heterocigotos de la mutación, ya que carecen de expresividad morfológica. En sujetos portadores de EC con herencia autosómica dominante, el diagnóstico sólo puede establecerse mediante examen morfológico de la sangre. Diversos estudios han mostrado que esta forma de EC es especialmente frecuente en zonas geográficas de paludismo endémico presente o pasado.
2. *Leve.* Es la más frecuente en nuestro medio, y se caracteriza por su escasa expresividad clínica. En general, es prácticamente asintomática, y por ello sólo puede evidenciarse mediante pruebas indirectas de hemólisis (la vida media eritrocitaria suele ser normal) y la presencia de una cifra no superior al 12% de eliptocitos circulantes. Esta forma de ECC resulta muy difícil de diagnosticar debido a la poca eficacia del estudio familiar (en algunos casos, el carácter portador sólo puede evidenciarse mediante biología molecular) y al hecho de que una eliptocitosis moderada forma parte del cuadro clínico de otras situaciones diversas, de carácter adquirido, como por ejemplo la ferropenia, anemia megaloblástica, mielodisplasias o mielofibrosis.
3. *Hemólisis esporádica.* En pacientes con las formas de ECC descritas puede observarse, con carácter esporádico y casi siempre en el curso de situaciones favorecedoras (HbF en recién nacidos, infecciones intercurrentes, trastornos de la microcirculacion, CID, déficit de factores madurativos, embarazo y otras), una descompensación del cuadro clínico con aparición de anemia hemolítica moderada o intensa. Ello se atribuye al efecto de factores microambientales diversos sobre el gen mutado, que favorecen o incrementan su expresividad[19]. Como criterio práctico, puede aceptarse que sujetos jóvenes que sin evidencia alguna de enfermedad presenten episodios esporádicos de hemólisis compensada o no, son probablemente portadores de alguna de las formas antes mencionadas de ECC. Por ello, en este caso es muy recomendable examinar minuciosamente la morfología eritrocitaria del paciente y sus familiares más próximos, al objeto de descartar la presencia de eliptocitosis en alguno de ellos.
4. *Hemólisis intensa.* En algunos pacientes afectados de ECC se aprecia un síndrome hemolítico con intensa anemia y esplenomegalia que recuerda a ciertas formas autosómico recesivas de esferocitosis hereditaria. Junto con la intensa reticulocitosis, se observa una

TABLA 8.11

Formas clínicas de eliptocitosis congénita

ELIPTOCITOSIS CONGÉNITA COMÚN (ECC)
- Asintomática (con o sin expresividad morfológica)
- Hemólisis moderada
- Hemólisis esporádica
- Hemólisis crónica intensa
- Picnocitosis infantil

PIROPOIQUILOCITOSIS CONGÉNITA (PPC)
- Hemólisis intensa

ELIPTOCITOSIS CONGÉNITA ESFEROCÍTICA (ECE)
- Forma heterocigota
- Forma homocigota

FENOTIPO LEACH
- Ausencia de hemólisis

marcada alteración de la morfología eritrocitaria, con coexistencia de formas muy diversas entre las que destacan eliptocitos, ovalocitos, dacriocitos (eritrocitos con deformación permanente «en lágrima») y esquistocitos (eritrocitos fragmentados). Desde el punto de vista molecular, las mutaciones más frecuentes en este tipo de pacientes son las que dan lugar a disminuciones de la capacidad de la espectrina para formar tetrámeros (SpD-SpD), siendo muy frecuentes las del tipo Sp αI. Aunque es habitual que se trate de homocigotos o de dobles heterocigotos para este tipo de mutaciones, también es posible la coexistencia de mutaciones potencialmente eliptogénicas (Sp^{EC}) pero asintomáticas en estado heterocigoto con un alelo LELY en posición *trans* (tabla 8.9).

5. *Piropoiquilocitosis congénita (PPC).* Es una forma poco frecuente de EC y con cierta predisposición por la raza negra, que se caracteriza por una intensa anemia de inicio neonatal acompañada de una marcada alteración de la morfología eritrocitaria. Así, en la PPC destaca la anisopoiquilocitosis extrema con gran abundancia de formas abigarradas junto con numerosos microesferocitos, esquistocitos, dacriocitos, eliptocitos y ovalocitos (fig. 8.16). Esta marcada fragmentación eritrocitaria va acompañada casi siempre de un descenso del VCM y un aumento de la amplitud de la curva de distribución eritrocitaria (ADE). La característica más destacada de esta entidad, además de la morfología eritrocitaria, es la intensa inestabilidad de la membrana eritrocitaria al calor, que fácilmente puede ponerse de manifiesto incubando los eritrocitos a 46 y 49 °C (*prueba de la estabilidad térmica de la membrana eritrocitaria*). Así, mientras que en condiciones normales los eritrocitos no inician la vesiculación por efecto del calor hasta los 49 °C, en la PPC esta transformación ya es intensa a 46 °C[8,14]. Desde el punto de vista molecular, en la PPC se asocian dos tipos de alteraciones: una discontinuidad de las uniones horizontales debido a la mutación de la espectrina que dificulta la asociación entre sus dímeros, y un fallo de las uniones verticales, debido al propio déficit parcial de espectrina. Estas alteraciones son consecuencia de la coexistencia de un alelo de α-espectrina mutado en *trans* con un alelo de baja expresión o de la asociación de dos alelos mutados de espectrina que sintetizan cadenas inestables incapaces de incorporarse a la membrana.

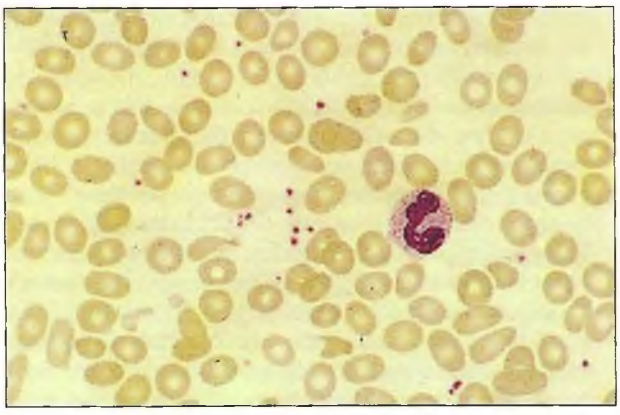


Figura 8.16. Frotis de sangre periférica en un paciente con anemia hemolítica debida a piropoiquilocitosis congénita (PPC) (MGG ×800). Es característica la anisocitosis con alteración de la forma eritrocitaria (poiquilocitosis) en la que destacan dacriocitos (forma de «lágrima»), esquistocitos (eritrocitos fragmentados) y microesferocitos.

Existe una forma de PPC infantil conocida, que se caracteriza por su aparición neonatal y la extremada aparatosidad del cuadro clínico, que desaparece a los 6-24 meses siendo sustituida por una EC común asintomática o moderada. Esta mejoría coincide con la sustitución de la Hb F por la Hb A, lo que sugiere que el nivel elevado de 2,3-DPG libre en las células fetales debilita las uniones espectrina/actina/proteína 4,2 y desestabiliza la membrana. En algunos casos, ha sido demostrada también la presencia de una mutación eliptocítica en *trans* con un alelo α^{LELY}.

Eliptocitosis esferocítica (EEs)

La EEs es un híbrido de EH con Elip H sólo descrita en individuos de raza blanca, que cursa con un síndrome hemolítico moderado o leve. En la extensión de sangre se observan eliptocitos, esferocitos, microesferocitos y microeliptocitos, pero no hay poiquilocitosis ni eritrocitos fragmentados. La morfología puede variar entre los elementos de una misma familia, y mientras en unos predominan los esferocitos, en otros lo hacen los eliptocitos. La FOE se halla aumentada, sobre todo la incubada. La esplenectomía puede mejorar el cuadro clínico, pero no va acompañada de una desaparición completa de la hemólisis. Dada la elevada prevalencia de ambos defectos de membrana (EH y EC) en nuestro medio, es posible la existencia de pacientes portadores de ambos trastornos y con una anemia hemolítica de intensidad variable, pero generalmente más intensa que la EH[17].

Ovalocitosis del sudeste asiático (OSEA)

También conocida como eliptocitosis estomatocítica, es muy frecuente en determinadas áreas del sudeste asiático como Filipinas, Malaysia, Indonesia y Papua Nueva Guinea, zonas todas ellas con paludismo endémico. Por ello, se considera que la prevalencia de la OSEA en estas zonas obedece a la presión genética ejercida por la ventaja selectiva frente a las formas graves de paludismo[28]. La transmisión hereditaria es autosómica dominante, y los portadores asintomáticos presentan hemólisis moderada. La inexistencia de formas homocigotas sugiere que éstas son incompatibles con la vida. Algunos autores consideran que la OSEA es una forma diferenciada del resto de las eliptocitosis, por dos razones fundamentales: *a*) desde el punto de vista morfológico, se diferencia claramente de la eliptocitosis congénita (EC) porque no se observan eliptocitos sino únicamente ovalocitos con la palidez central alargada o en forma de «boca» (estomatocito), y *b*) el defecto genético se sitúa en el gen *EPB3* que codifica la banda 3 (lo que aproximaría la OSEA a la EH), y consiste en dos mutaciones en *cis:* una delección de 9 codones (aminoácidos 400 a 408), situados en la transición entre los dominios citoplasmáticos y transmembranosos de la banda 3, y la sustitución Lys56Glu o polimorfismo conocido con el nombre de banda 3 Menphis[29]. La OSEA constituye un modelo de patología en que los eritrocitos presen-

tan una membrana extremadamente rígida, es decir, muy poco deformable, lo que les hace más resistentes al calor y a la penetración del parásito del paludismo o malaria.

Diagnóstico

En la práctica clínica, el diagnóstico de la EC es aún exclusivamente morfológico y viene determinado por la presencia de eliptocitos o eritrocitos circulantes excéntricos (relación diámetro longitudinal/transversal > 1) y un estudio familiar compatible. Debido a la existencia de formas intermedias entre el discocito normal y el eliptocito, algunos autores han clasificado a los eritrocitos excéntricos en dos grupos: I/II (ovalocitos) y III (eliptocitos). En el estado homocigoto y en especial en las formas asociadas con anemia hemolítica, el mayor porcentaje de eritrocitos pertenece al grupo III o eliptocitos propiamente dichos (fig. 8.15). Dado que en la mayoría de las formas clínicas de ECC el número de eliptocitos no suele ser superior al 12%, la valoración de este porcentaje no constituye un criterio diagnóstico fundamental. Además, en estas circunstancias, la clínica y otros criterios exploratorios del paciente deben desempeñar un papel más decisivo, ya que un pequeño porcentaje de eliptocitos no es exclusivo de EC sino que puede observarse también en individuos sanos (1-2%) y en situaciones tan diversas como talasemias, anemias carenciales, síndromes mielodisplásicos y otras causas de diseritropoyesis congénita o adquirida, donde el porcentaje puede alcanzar hasta el 15%. Las formas de EC más fáciles de diagnosticar son las que cursan con anemia hemolítica intensa y numerosos eliptocitos circulantes (> 60%) y la PPC, pero en contrapartida, son las menos frecuentes. La PPC y algunas formas de ECC pueden también detectarse mediante la prueba de la estabilidad térmica de la membrana eritrocitaria. Aunque los datos aportados por la clínica, el examen morfológico de la extensión de sangre y la prueba de la estabilidad térmica de la membrana eritrocitaria son extraordinariamente útiles para establecer el diagnóstico, la confirmación del mismo requiere siempre demostrar la presencia del defecto molecular[18].

Tratamiento

Al igual que en la EH, la esplenectomía parece ser el único tratamiento eficaz en aquellos casos en los que ésta viene aconsejada por la clínica o el efecto mecánico de la esplenomegalia. No obstante, como ya se ha comentado con anterioridad, la respuesta no es nunca tan completa como en la EH.

Estomatocitosis

Los estomatocitos son eritrocitos cuya palidez central presenta una forma alargada que recuerda el perfil de la boca (εστοματοσ). En realidad, esta peculiar forma eritrocitaria constituye una imagen deformada de los eritrocitos que han perdido una de sus concavidades (eritrocitos unicóncavos), cuando al realizar la extensión sanguínea son aplastados sobre un portaobjetos (fig. 8.17). La estomatocitosis constituye la expresión morfológica de un trastorno estructural o funcional de la membrana eritrocitaria cuyo mecanismo, en la mayoría de casos, aún se desconoce. En la práctica clínica puede verse estomatocitosis adquirida en el curso del alcoholismo agudo, la insuficiencia hepatocelular grave o después del tratamiento con alcaloides de la vinca (vincristina). En todos estos casos se cree que tales agentes inducen la estomatocitosis a través de una expansión de la lámina interna de la bicapa lipídica.

La estomatocitosis congénita (EsC) constituye, en realidad, un grupo relativamente heterogéneo de trastornos de la membrana eritrocitaria (síndromes estomatocíticos) cuya característica común es un defecto de permeabilidad a los cationes monovalentes (Na^+ y K^+). En la actualidad, se reconocen cuatro síndromes estomatocíticos de origen congénito con transmisión hereditaria autosómico dominante: *a*) síndrome Rh_{nulo} (Rh_0); *b*) hidrocitosis congénita (HC); *c*) xerocitosis congénita (XC), y *d*) seudohiperpotasemia familiar (PHPF).

Síndrome Rh_{nulo} (Rh_0)

Es una forma rara de anemia hemolítica caracterizada por la ausencia, total o parcial, de antígenos Rhesus (Rh)

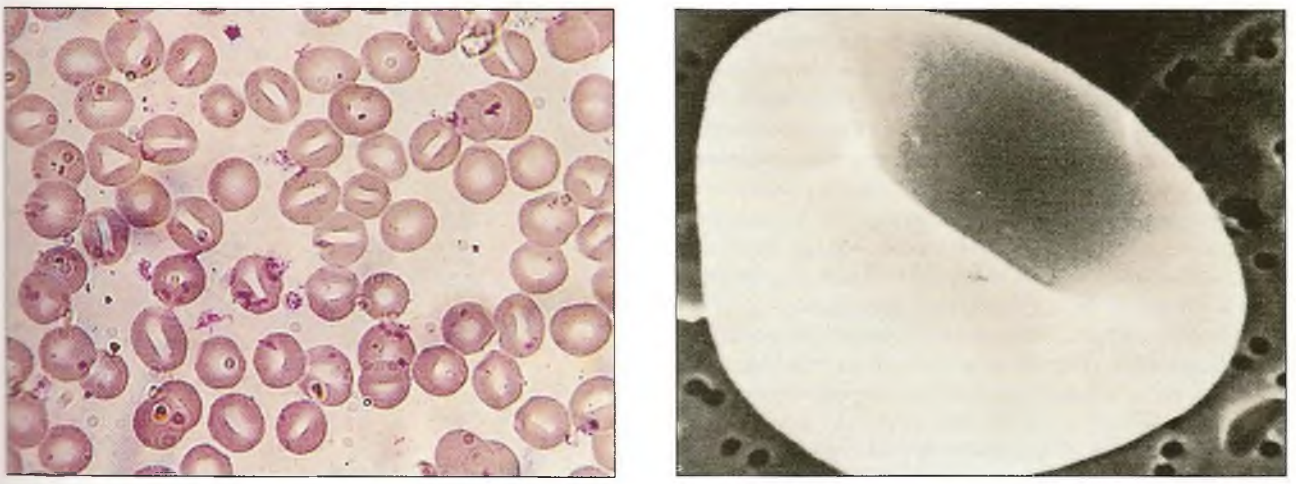


Figura 8.17. Examen morfológico de sangre periférica de un paciente con estomatocitosis debida a un síndrome Rh nulo. *Izquierda:* tinción convencional del frotis (MGG ×800) en el que se aprecian numerosos eritrocitos en los que la palidez central tiene forma alargada (forma «de boca»). *Derecha:* imagen de un estomatocito observado mediante el MEB. Obsérvese la característica forma acampanada debido a la pérdida de una de las dos concavidades propias del eritrocito normal.

que son glucoproteínas (RH50, CD47, LW y GBP) de la membrana eritrocitaria, cuya síntesis es codificada por los genes *RHD* y *RHCE*, ambos situados en el cromosoma 1p34-p36. El estudio molecular de este síndrome ha demostrado que la mayoría de fenotipos Rh_{nulo} obedecen a mutaciones de un gen regulador que codifica la subunidad RH50. La frecuencia del síndrome Rh_{nulo} se ha estimado en 1 caso por cada 3 millones de nacimientos, y clínicamente cursa con anemia hemolítica, generalmente intensa y acompañada de un aumento de la fragilidad osmótica eritrocitaria (FOE). Junto con un elevado porcentaje de estomatocitos circulantes, pueden observarse también esferocitos, y el diagnóstico se establece mediante la prueba serológica que pone de manifiesto una ausencia de aglutinación eritrocitaria frente a anticuerpos anti-Rh. La membrana de los eritrocitos afectados del síndrome Rh_{nulo} presenta un aumento de la difusión pasiva de cationes monovalentes (Na^+ y K^+), lo que produce una disminución del contenido acuoso intraeritrocitario (deshidratación). No obstante, debido a que la relación S/V se halla tambien disminuida, la FOE puede hallarse aumentada, lo que suele dificultar el diagnóstico diferencial con la esferocitosis hereditaria. El mecanismo fisiopatológico de la hemólisis en el síndrome Rh_{nulo} se desconoce, aunque se atribuye a la pérdida del efecto estabilizador del antígeno Rh sobre la membrana eritrocitaria y a la alteración de la disposición de los fosfolípidos que configuran la doble capa lipídica[30].

Hidrocitosis congénita (HC)

La HC o estomatocitosis hereditaria con hidrocitosis (EHH) es un síndrome hemolítico crónico muy raro, debido a un trastorno de la permeabilidad iónica que altera la concentración de los cationes intraeritrocitarios y modifica el movimiento de agua entre ambos lados de la membrana. Aunque el agua utiliza un canal específico de transporte (acuaporina), y el eritrocito pone en marcha una intensa activación de la bomba de sodio (Na^+) y potasio (K^+), la membrana no puede contrarrestar la excesiva entrada de Na^+ y el eritrocito se hidrata. Debido a ello, pierde una de sus concavidades y adquiere forma acampanada (fig. 8.17). En este trastorno se ha observado que el tratamiento de los eritrocitos con imidoésteres corrige tanto el defecto funcional como el morfológico en su práctica totalidad.

El comportamiento clínico de la EHH es superponible al de otras anemias hemolíticas congénitas de carácter crónico, y su característica diferencial es la presencia de un porcentaje variable de estomatocitos circulantes. Aunque no suelen observarse esferocitos, la fragilidad osmótica eritrocitaria (FOE) suele hallarse disminuida, pero a diferencia de la esferocitosis hereditaria, la CCMH se halla casi siempre disminuida (< 310 g/L), lo que facilita el diagnóstico diferencial entre ambas entidades. No obstante, en la actualidad, el único procedimiento diagnóstico de la EHH es la demostración del aumento de la difusión pasiva al sodio (Na^+) y el correspondiente aumento de la concentración intraeritrocitaria de sodio. Referente al tratamiento, debe señalarse que, a diferencia de otras anemias hemolíticas hereditarias, en la EHH la esplenectomía, además de poco eficaz, presenta frecuentes complicaciones tromboembólicas (trombosis arteriales o venosas en extremidades y embolismo pulmonar, principalmente) por lo que no es aconsejable practicarla, excepto en aquellos casos con anemia muy intensa.

Finalmente, el mecanismo molecular del defecto de la membrana en la EHH se desconoce, aunque algunos estudios han demostrado en esta entidad un déficit significativo de la banda 7,2b o estomatina presente en la membrana de los eritrocitos[31].

Xerocitosis congénita (XC)

La XC o estomatocitosis hereditaria con deshidratación (EHD) constituye otro trastorno de permeabilidad iónica eritrocitaria mucho más frecuente que la EHH. Aunque la incidencia de esta enfermedad en nuestro medio se desconoce, los casos descritos hasta la actualidad indican que no es excepcional[32]. La XC cursa, generalmente, con un síndrome hemolítico crónico bien compensado y casi siempre acompañado de intensa reticulocitosis (> 200 x 10^9/L). A diferencia de la HC, la morfología eritrocitaria es muy poco expresiva, aunque un examen minucioso de la misma permite apreciar, como datos más destacados, un pequeño porcentaje (5-10%) de codocitos (eritrocitos en diana) y de eritrocitos con formas irregulares (fig. 8.18). A diferencia de la EHH o de la HC, en la XC los eritrocitos

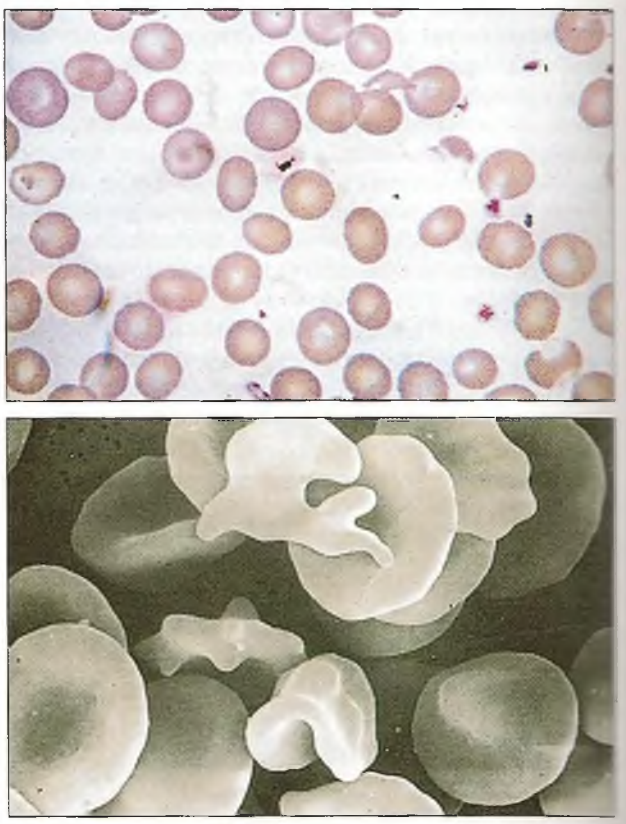


Figura 8.18. Examen morfológico de la sangre periférica de un paciente con xerocitosis congénita (XC). *Superior:* tinción convencional del frotis (MGG ×800). Se observan codocitos (eritrocitos en diana) y algún eritrocito de pequeño tamaño e intensamente deformado o con desplazamiento de la hemoglobina hacia uno de sus extremos o exentrocito (centro). *Inferior:* la misma muestra observada mediante el MEB permite apreciar la irregular conformación de algunos eritrocitos que aparecen intensamente deformados debido al fenómeno de deshidratación (imagen en «silla de montar»).

se hallan deshidratados, lo que se pone de manifiesto a través del marcado aumento de la CCMH (> 350 g/L), especialmente cuando se emplean analizadores hematológicos que miden de forma directa e independiente el VCM y la CCMH[29]. Debido a ello, también, la fragilidad osmótica eritrocitaria (FOE) se halla casi siempre disminuida, lo que distingue claramente la XC de la EH y HC. Se ha demostrado, también, que los xerocitos son especialmente resistentes al calor[32], lo que permite el escrutinio de la XC mediante la prueba de la estabilidad térmica de la membrana, ya descrita para el diagnóstico de la piropoiquilocitosis congénita (PPC). Así, mientras que en la PPC los eritrocitos inician un proceso de vesiculación (fragmentación) a los 46 °C, en la XC éste no se produce hasta pasados los 50 °C. Finalmente, otra alteración de la membrana eritrocitaria frecuentemente asociada con la XC es el aumento del contenido en fosfatidilcolina. Aunque algunos autores consideran que este trastorno del componente lipídico de la membrana eritrocitaria podría corresponder a una entidad independiente, en la actualidad se tiende a encuadrarlo dentro de la XC. En definitiva, una atenta valoración de la morfología eritrocitaria, las magnitudes del hemograma automatizado (especialmente, la CCMH), la marcada reticulocitosis, la disminución de la FOE y el aumento de la resistencia al calor de los eritrocitos permiten establecer el diagnóstico clínico del proceso. Al igual que para la EHH, la confirmación definitiva del proceso requiere una demostración del aumento de la permeabilidad pasiva al Na^+ acompañado de una disminución de la concentración de cationes intraeritrocitarios (tabla 8.12).

El mecanismo molecular de la EHD se desconoce, aunque se considera que es una variación (imagen en espejo) del proceso descrito en la EHH. Según esta hipótesis, mientras que en la EHD el exceso de permeabilidad pasiva al sodio y al potasio generaría una pérdida del contenido acuoso eritrocitario (desecación o deshidratación), en la EHH se produciría un fenómeno inverso (inundación acuosa o hidratación). Ello obedecería a que en la EHD o en la XC, a diferencia de lo que sucede en EHH o HC, la excesiva activación compensadora (20 a 40 veces) de la bomba de Na^+/K^+ conseguiría mantener la concentración intracelular de Na^+ pero no podría impedir la pérdida de K^+ y, con ello, de contenido acuoso. Finalmente, al igual que en la HC la esplenectomía en pacientes con XC puede comportar un mayor riesgo de fenómenos tromboembólicos.

Seudohiperpotasemia familiar (SHPF)

Constituye un trastorno que, si bien se ha observado en algunos pacientes con XC, puede presentarse tambien de forma aislada[14]. En la SHPF no existe otra alteración eritrocitaria demostrable ni tampoco clínica hemolítica, por lo que su hallazgo fue el resultado de la observación fortuita de un exceso de potasio en el plasma (7-9 mEq/L) cuando la sangre, despues de extraída, se dejaba reposar algún tiempo a temperatura ambiente. Se trata, por tanto, de un fenómeno que se produce *in vitro*, puesto que, en realidad, los pacientes carecen de alteración alguna en su concentración plasmática de potasio. La observación del mismo fenómeno en nuevos casos permitió demostrar que el exceso de potasio plasmático obedecía, en realidad, a la difusión *in vitro* del potasio intraeritrocitario hacia el plasma algunas horas después de extraída la muestra y, preferentemente, a temperatura ambiente. Finalmente, se ha determinado que este trastorno obedece a un defecto congénito de la membrana que se transmite con carácter autosómico dominante y por el cual el eritrocito pierde espontáneamente su contenido en potasio una vez fuera del organismo y por causas que aún se desconocen. Más recientemente, se ha observado también una asociación entre SHPF y la ascitis quilosa perinatal, fenómeno que también se ha observado en algún caso de XC. La relación posible entre SHPF, HC y ascitis quilosa perinatal se desconoce, aunque dada la asociación, es probable la existencia de algún nexo común, que debe ser investigado en el futuro con el estudio de nuevos casos.

Acantocitosis

Los acantocitos son eritrocitos densos que presentan prolongaciones citoplasmáticas cortas, de base ancha, e irregularmente distribuidas (fig. 8.19). Aunque la acan-

TABLA 8.12

Exámenes hematológicos generales de utilidad práctica en el diagnóstico diferencial de las membranopatías congénitas

Membranopatía	Morfología eritrocitaria	VCM	CCMH	Fragilidad osmótica eritrocitaria (FOE)
Esferocitosis hereditaria	Esferocitos (1-8%)	N o ↑	↑	↑
Eliptocitosis congénita	Ovalocitos (> 5%) Eliptocitos	N o ↑	N o ↑	N
Piropoiquilocitosis congénita	Dacriocitos, esquistocitos, microesferocitos	↓↓↓	↑↑	↑↑
Hidrocitosis congénita	Estomatocitos	N o ↑	↓	↑
Xerocitosis congénita	Codocitos Excentrocitos	N o ↑	↑↑↑	↓

N: normal; ↑: aumentada; ↓: disminuida.

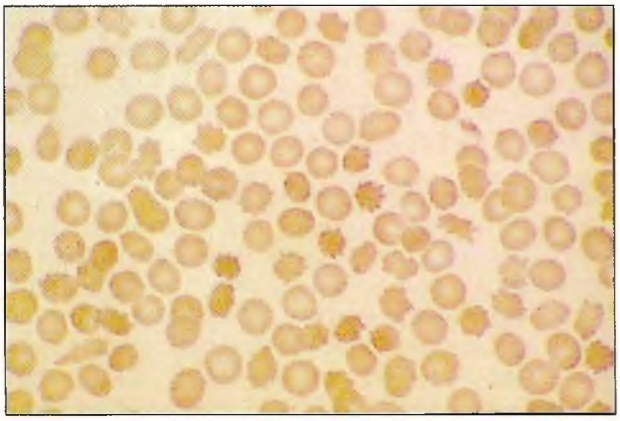


Figura 8.19. Examen morfológico del frotis sanguíneo de un paciente con abetalipoproteinemia congénita con intensa acantocitosis (MGG ×800 A).

tocitosis puede observarse como fenómeno acompañante de diversas situaciones patológicas como, por ejemplo, el estado de desnutrición grave (anorexia nerviosa), hipotiroidismo, postesplenectomía e insuficiencia hepatocelular grave por intoxicación alcohólica, en todas ellas tiene siempre un origen adquirido. Cabe destacar la elevada frecuencia con que la acantocitosis suele asociarse con situaciones de insuficiencia hepática grave, en general secundarias a la ingesta alcohólica. En estos casos, es frecuente observar, junto con la marcada alteración de la función hepática, una anemia hemolítica de intensidad variable que agrava considerablemente el cuadro clínico. El mecanismo íntimo de esta forma de anemia hemolítica aún es objeto de estudio, aunque los factores que parecen intervenir son el aumento del contenido en colesterol de la membrana eritrocitaria (*spur-cells*) y un efecto directo sobre la membrana eritrocitaria por parte del propio hígado lesionado. En algunos casos, se ha observado también la coexistencia de un componente inmune. Las *spur-cells*, morfológicamente indistinguibles de los acantocitos propios de la abetalipoproteinemia, son eritrocitos rígidos que tienen una relación superficie/volumen disminuida. La anemia oscila entre moderada e intensa, y cursa con más del 20% de acantocitos circulantes, hiperbilirrubinemia indirecta, esplenomegalia y signos clínicos y biológicos de disfunción hepática grave. Algunos pacientes con cirrosis alcohólica presentan el síndrome de Zieve, una entidad mal definida que cursa con hiperlipoproteinemia, ictericia y anemia hemolítica esferocítica[18].

La acantocitosis también es frecuente en pacientes con anorexia nerviosa grave, ayuno prolongado o malnutrición, pero la etiología es desconocida. En el plasma, los niveles de lípidos y de las LDL se hallan dentro de la normalidad o ligeramente disminuidos. A pesar de la existencia de acantocitosis, sólo un pequeño número de pacientes sufre anemia, y algunos tienen neutropenia o trombocitopenia moderadas.

Finalmente, en el hipotiroidismo se observan con frecuencia acantocitos característicos «en dedo de guante», por lo que se aconseja realizar pruebas de función tiroidea a todos los pacientes que presenten esta alteración morfológica de los eritrocitos.

Abetalipoproteinemia

Es una enfermedad rara caracterizada por un inicio perinatal, con neuropatía grave progresiva (ataxia cerebelosa) que recuerda la enfermedad de Friedreich, retinitis pigmentosa que con frecuencia conlleva a la ceguera, malabsorción intestinal de grasas con esteatorrea, hemólisis moderada, disminución del tiempo de protrombina y un elevado número de acantocitos en sangre periférica[33].

En la abetalipoproteinemia existe un defecto en la absorción intestinal de lípidos, con marcada disminución del colesterol plasmático y ausencia total de β-lipoproteínas (HDL, LDL y VLDL). Debido a ello, los eritrocitos poseen una membrana más rígida de lo normal debido al aumento relativo de la concentración de colesterol y esfingomielina, y son deficitarios en vitamina E, lo que les confiere una elevada sensibilidad extrema al efecto de sustancias oxidantes. El mecanismo íntimo de la acantocitosis en la abetalipoproteinemia se atribuye a una alteración del intercambio lípidico entre la membrana del eritrocito y el plasma, por el que se produce un aumento de esfingomielina en la capa lipídica externa.

Síndrome corea acantocitosis

Llamado tambien corea amiotrófica, es una neuropatía rápidamente progresiva, con inicio en la adolescencia o en la edad adulta, y que cursa con acantocitosis sin alteración de las lipoproteínas. Mientras que en unos pacientes la hemólisis es inexistente o mínima, en otros la acantocitosis precede al inicio de los síntomas neuroiógicos. Se transmite con carácter autosómico dominante, y las manifestaciones clínicas consisten en corea y discinesia facial (*ticks* y mordedura de la lengua y labios), hipotonía muscular progresiva que suele terminar en atrofia y una afectación mental también de carácter progresivo que puede llevar a la demencia o al suicidio. En estos enfermos, la expresión hematológica es muy escasa, y consiste únicamente en la presencia de acantocitos circulantes sin anemia[34].

Fenotipo McLeod (Ko)

Es una enfermedad multisistémica con hemólisis compensada, reticulocitosis y acantocitosis (8-85%) que, en ocasiones, cursa también con miopatía o corea de aparición tardía[35]. Obedece a la presencia del subgrupo sanguíneo *McLeod* por déficit de precursor Kx del antígeno K perteneciente al sistema Kell. Debido a ello, existe expresividad muy débil o nula de los antígenos de este grupo sanguíneo en eritrocitos (reacción muy débil frente al suero anti-Kell). Esta circunstancia hace que sea importante reconocer la presencia del grupo McLeod ya que si estos enfermos son transfundidos, pueden desarrollar anticuerpos anti-Kell.

La implicación del cromosoma X en este trastorno hace que la anomalía sólo se exprese en los individuos del sexo masculino (enfermedad ligada al sexo). Clínicamente, el fenotipo McLeod eritrocitario se caracteriza por un síndrome hemolítico bien compensado, con policromasia, acantocitosis (30-80%) y susceptibilidad a la inmunización por los antígenos del sistema Kell. El déficit de Kx puede observarse también en leucocitos[36], y en este caso cursa con enfermedad granulomatosa crónica (EGC), retinitis pigmentosa y distrofia muscular

de Duchenne[37]. Cabe señalar también el importante aumento de la creatincinasa sérica (CK) en esta enfermedad, lo cual podría explicarse por el efecto pleiotrópico de un gen situado en el cromosoma X.

Fenotipo Lutheran nulo Lu(a-b-)

Se caracteriza por poiquilocitosis y acantocitosis, pero no se asocia con hemólisis. La FOE incubada se halla disminuida porque los eritrocitos pierden K^+ *in vitro*[38,39].

Equinocitosis

La presencia de equinocitos constituye un trastorno relativamente frecuente en la práctica clínica. En la mayoría de los casos obedece a un artefacto debido al contacto de los eritrocitos normales con el cristal del portaobjetos. Otras veces se trata de alteraciones inducidas por factores diversos intra o extraeritrocitarios. Entre los factores intraeritrocitarios destacan los trastornos congénitos del metabolismo que afectan fundamentalmente la función normal de la glucólisis anaerobia: déficit congénito de piruvato cinasa (PK) o de cualquier otra enzima capaz de bloquear la producción normal de ATP por el eritrocito (fig. 8.20). Entre las causas extraeritrocitarias cabe mencionar la hipofosfatemia, la uremia y ciertas hemólisis mecánicas producidas por un ejercicio muscular extenuante (atletas). Con todo, el mecanismo íntimo de la equinocitosis no es aún del todo bien conocido, y se han atribuido factores diversos, entre los que tendrían cierto papel variaciones conformacionales de la banda 3[40]. En enfermos con *insuficiencia renal* avanzada, la vida media de los eritrocitos se halla disminuida debido a un factor extracorpuscular, no dializable, que según algunos estudios, parece ser la hormona paratiroidea. En la extensión de sangre se observan equinocitos y células fragmentadas, probablemente debido a un aumento de Ca^{2+} intracelular.

Finalmente, existe un trastorno conocido como *picnocitosis infantil* que aparece en algunos recién nacidos a término o prematuros durante los primeros días de vida y que se caracteriza por anemia con reticulocitosis, ictericia y hepatoesplenomegalia moderada, elevación moderada de la transaminasa glutámico-oxalacética (50 a 250 UI) y un número variable de equinocitos y eritrocitos irregularmente contraídos y picnóticos en sangre periférica. La anemia es de intensidad variable, y alcanza un punto álgido hacia la tercera y cuarta semanas de vida, con recuperación espontánea poco después. A veces es necesaria una exsanguinotransfusión, a pesar de que no es muy eficaz porque los eritrocitos transfundidos sufren picnosis y disminuye rápidamente su supervivencia en la circulación, lo que sugiere un defecto extracorpuscular.

Figura 8.20. Equinocitosis eritrocitaria en una sangre periférica con déficit de piruvato cinasa (PK) eritrocitaria observada mediante MEB. Destaca la presencia de unos equinocitos muy evidentes (*flecha*) cuya presencia es altamente sugestiva de esta enzimopatía.

Codocitosis

Los codocitos son eritrocitos en los que la palidez central presenta un área densa en su centro que recuerda una diana (eritrocitos en diana o dianocitos). Ello obedece al aumento de la superficie eritrocitaria con relación al volumen, lo que genera una mayor proximidad entre las dos áreas bicóncavas de la membrana, con aumento local de la concentración de hemoglobina (fig. 8.21). Los dianocitos pueden obedecer a un aumento del grosor de la membrana eritrocitaria por acúmulo de fosfolípidos y colesterol (hepatopatía de origen obstructivo) o a una disminución de la CCMH (anemia ferropénica, talasemia y ciertas hemoglobinopatías). Los dianocitos presentan una disminución de la fragilidad osmótica, pero su supervivencia en la circulación es normal porque conservan intacta la deformabilidad. Una causa congénita de la codocitosis es el déficit de lecitincolesterolaciltransferasa (LCAT), trastorno autosómico dominante muy raro, del que se han descrito muy pocos casos en la literatura. La LCAT es una enzima que cataliza la transformación de ácidos grasos desde la fosfatidilcolina al colesterol. Clínicamente, el déficit de LCAT se caracteriza por ateroesclerosis precoz, neuropatía, anemia hemolítica muy discreta y codocitos circulantes[41]. El estudio de los lípidos plasmáticos revela diversas alteraciones secundarias a la enzimopatía.

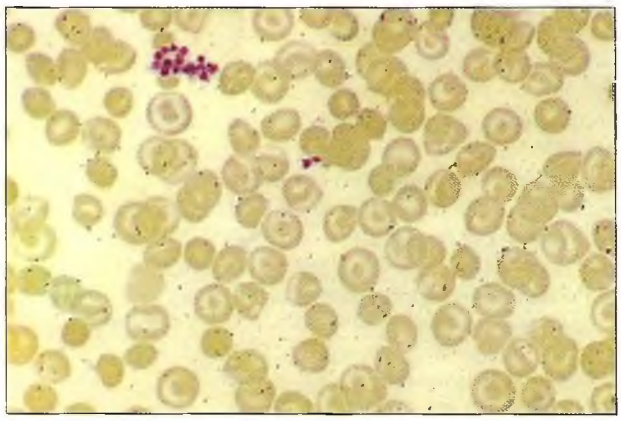


Figura 8.21. Imagen típica de eritrocitos «en diana» o codocitos en un caso de insuficiencia hepática grave.

ENZIMOPATÍAS ERITROCITARIAS

Desde la primera descripción del déficit de glucosa-6-fosfatodeshidrogenasa (G6PD) como causa de la hemólisis enzimopática[42], se han descrito numerosas eritroenzimopatías que afectan a diferentes vías del me-

tabolismo eritrocitario[43]. De acuerdo con ello, para su estudio, las eritroenzimopatías se clasifican en tres grandes grupos: *a*) enzimopatías de la glucólisis anaerobia (vía de Embden-Meyerhof); *b*) enzimopatías del metabolismo oxidorreductor, y c) enzimopatías del metabolismo nucleotídico (tabla 8.13).

Enzimopatías de la glucólisis anaerobia

Las enzimopatías del metabolismo glucolítico alteran la capacidad energética del eritrocito, dificultando la formación o utilización del ATP (fig. 4.15). En general, la hemólisis acompaña a aquellas enzimopatías que ocupan una posición relevante o «clave» en la vía metabólica, como por ejemplo la hexocinasa (HK), fosfofructocinasa (PFK) y piruvatocinasa (PK), o las que intervienen en determinadas etapas esenciales, como la glucosa-fosfato-isomerasa (GPI), triosa-fosfato-isomerasa (TPI), aldolasa (ALD) y fosfoglicerato-cinasa (PGK), principalmente. A excepción del déficit hereditario de PFK y TPI que va acompañado de importantes trastornos musculares y neurológicos, respectivamente, las restantes enzimopatías de la glucólisis anaerobia sólo presentan una anemia hemolítica crónica de intensidad variable y, sólo excepcionalmente, cierto grado de retraso mental, cuyo mecanismo es desconocido. La enzimopatía de la glucólisis anaerobia más frecuente es el déficit de PK, seguido a distancia por el de GPI y TPI. Las restantes eritroenzimopatías son, en realidad, excepcionales[44].

Déficit de piruvatocinasa (PK)

La PK es la última enzima de la glucólisis y cataliza la transformación de fosfoenolpiruvato (PEP) a piruvato, proceso en el que se produce una molécula de ATP. La PK humana es codificada por dos genes diferentes (*PK RL* y *PK M*). El gen *PK RL* codifica dos enzimas: PK R (eritrocitos) y PK L (hígado), y el gen *PK M*, otras dos: PK M2 (precursores eritroides, plaquetas, leucocitos, tejidos fetales, adiposo, pulmón, riñón y bazo) y PK M1 (músculo y cerebro). La síntesis de las enzimas eritrocitaria (PK R) y hepática (PK L) viene regulada por un mecanismo de *splicing* alternativo del gen PK LR por el cual el RNAm de la enzima PKR difiere del de la enzima PKL en la lectura de los exones 1 y 2, respectivamente (fig. 8.22). Debido a esto, la enzima eritrocitaria (PK R) difiere completamente de la leucocitaria (PK M2), y su déficit sólo afecta a eritrocitos, de forma que los leucocitos presentan una actividad PK normal[45]. En un único caso, se ha detectado una variante hiperactiva de PK por persisten-

TABLA 8.13

Eritroenzimopatías de mayor interés clínico

	N.º loci	Subunidades	Localización preferente	Localización cromosómica	Intensidad del síndrome hemolítico	Otras manifestaciones clínicas
Metabolismo glucolítico						
Hexocinasa (HK)	3	4	HK-I	10	++	No
Glucosa-fosfato-isomerasa (GPI)	1	2	Común	19	+/++++	Retraso mental y glucogenosis
Fosfofructocinasa (PFK)	3	4	M,L	1,21	++	Miopatía y glucogenosis
Aldolasa	3	4	A	?	+	Retraso mental y glucogenosis
Triosa-fosfato-isomerasa (TPI)	1	2	Común	12	+++	Neuropatía grave
Fosfoglicerato-cinasa (PGK)	1	1	Común	X	+/++++	Retraso mental y neuropatía
Piruvatocinasa (PK)	3	4	L	15	+/++++	No
Metabolismo oxidorreductor						
Glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa	1	2-4	Común	X	+/++++	No
Glutatión-sintetasa (GS)	1	2	–	?	+	Oxoprolinuria y neuropatía
D-Glutamilcisteín-sintetasa (GGS)	1	2	–	?	+	Oxoprolinuria y neuropatía
Glutatión-reductasa (GR)	1	1	–	8	(+) Favismo	No
Glutatión-peroxidasa (GP)	1	1	–	3	+	No
Metabolismo nucleotídico						
Adelinato-cinasa (AK)	3	2	AK-I	9	+	No
Adenosindesaminasa (ADA) (hiperactividad)	1		Común	20	+	No
Pirimidina-5'nucleotidasa (P5'N)	1	2	Exclusivo	?	++	No

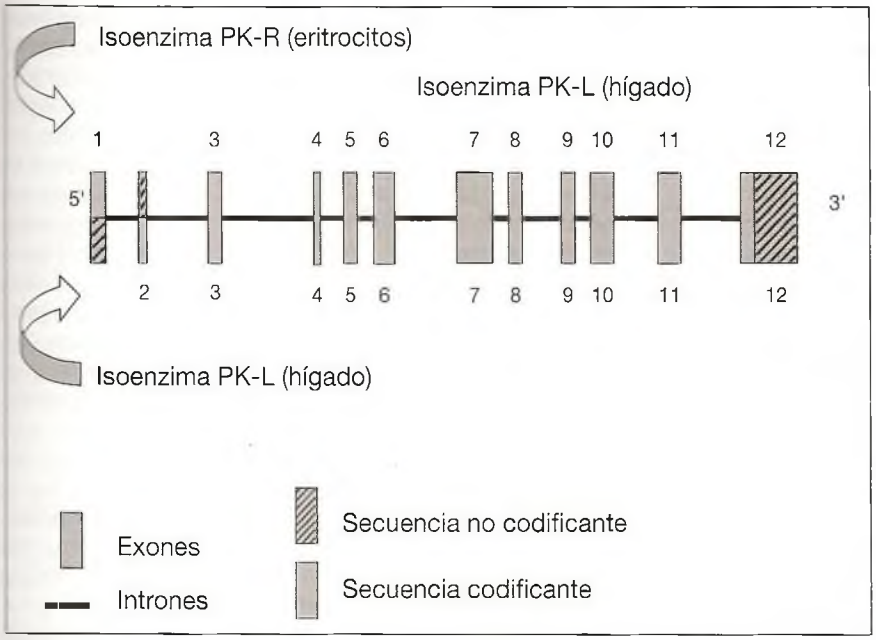


Figura 8.22. Escisión alternativa del gen *PK LR* en el proceso de síntesis de la PK eritrocitaria (PL R).

cia hereditaria de la forma PK M2 (presente en los eritroblastos normales, pero que desaparece con la maduración) que en lugar de hemólisis cursa con poliglobulia[46].

El déficit congénito de PK eritrocitaria se transmite con carácter autosómico recesivo, y hasta la actualidad se han descrito más de 500 casos distribuidos por toda la geografía mundial[13,47]. Los portadores heterocigotos de la enzimopatía pueden presentar una prevalencia de hasta el 1% en determinadas poblaciones, especialmente en el norte de Europa. En España, la frecuencia del déficit de PK se desconoce, pero no constituye una enzimopatía rara. En su forma heterocigota, el déficit de PK suele carecer de expresividad clínica, aunque se han descrito casos con antecedentes de hemólisis neonatal o con aparición del síndrome hemolítico en la edad adulta en el curso de situaciones diversas como, por ejemplo, una infección intercurrente, una enfermedad metabólica o el embarazo[48]. Los medicamentos no parecen ejercer una acción nociva en el déficit de PK, aunque en algún caso se ha observado cierta agudización de la hemólisis después de la ingesta de anovulatorios orales. La clonación del gen *PK R-L* ha permitido la obtención del correspondiente DNAc y, con ello, la secuenciación del gen *PK LR* y el hallazgo de más de 100 mutaciones diferentes que obedecen a sustituciones de una única base nitrogenada, deleciones o inserciones, cuya consecuencia última es la síntesis de una enzima con actividad catalítica muy alterada o marcadamente inestable.

Manifestaciones clínicas

El déficit congénito de PKR cursa con anemia hemolítica crónica de intensidad variable. En la mayoría de los casos, se trata de individuos homocigotos o doble-heterocigotos para dos alelos con diferente mutación. En algunos casos se ha observado anemia hemolítica leve o moderada también en individuos aparentemente portadores heterocigotos de la enzimopatía. La hemólisis suele presentar inicio neonatal o dentro de la primera década de la vida, y sus características son parecidas a las descritas para la esferocitosis hereditaria (EH), excepto por la ausencia de esferocitos circulantes y fragilidad osmótica normal. Por ello, esta forma de anemia hemolítica no acompañada de esferocitosis y casi siempre secundaria a un déficit de PK se denominó en un principio «no esferocítica» para diferenciarla claramente de la que acompaña a la EH. Con todo, la intensidad del cuadro anémico en el déficit de PK suele ser algo superior al de la EH y, por tanto, más frecuentemente asociada a las complicaciones propias de la hemólisis crónica, en especial la litiasis biliar y las úlceras maleolares tórpidas. Los casos con síndrome hemolítico grave y de inicio neonatal son raros pero, cuando existen, se caracterizan por la intensidad del cuadro hemolítico y la presencia de complicaciones como retraso del crecimiento, del desarrollo gonadal y sobrecarga férrica (tabla 8.14). Al igual que en otros síndromes hemolíticos crónicos, en el déficit de PK son frecuentes las infecciones respiratorias intercurrentes, en especial de las vías respiratorias altas, situaciones que pueden descompensar el proceso e intensificar la hemólisis. Al igual que en la EH, la sobreinfección por parvovirus humano tipo B19 puede facilitar la aparición de una crisis de aplasia o eritroblastopenia aguda. Otro trastorno clínico con

TABLA 8.14

Complicaciones del déficit grave de PK

Kernicterus
Úlceras maleolares
Pancreatitis aguda secundaria a lesión biliar
Sobrecarga férrica con hepatopatía y lesión miocárdica
Absceso esplénico
Compresión del canal medular por tumoración hematopoyética
Flebitis migratoria con trombosis arterial

frecuencia asociado al déficit de PK es la trombosis de la arteria carótida, facilitada por el mayor riesgo trombótico que presentan estos enfermos.

Diagnóstico

El diagnóstico del déficit de PK requiere siempre la medida de la actividad enzimática en el hemolizado. Para ello, debe tenerse la precaución de eliminar por completo los leucocitos, ya que al poseer éstos una actividad PK normal podrían enmascarar el déficit de PKR[8]. Otros datos exploratorios y de laboratorio son sólo orientativos, aunque cuando existen, son siempre de gran utilidad. Las alteraciones morfológicas eritrocitarias presentes en el déficit de PKR se consideran generalmente inespecíficas, pero en un considerable número de casos es frecuente observar un número variable, pero siempre destacado, de equinocitos (fig. 8.20). La equinocitosis en el déficit congénito de PKR pone de manifiesto el trastorno metabólico que, en el eritrocito, genera la disminución de su contenido en ATP. Por ello, dicha alteración no es exclusiva de este déficit enzimático sino que puede observarse también en cualquier otra enzimopatía de la glucólisis anaerobia que curse con hemólisis. Otros exámenes hematológicos muestran, prácticamente siempre, una elevada reticulocitosis (> 159 x 10^9/L), moderada macrocitosis (VCM: 98 a 105 fL) y trombocitosis persistente. La medida de la vida media eritrocitaria (^{51}Cr T1/2) muestra un acortamiento más o menos acusado de la misma, aunque no es infrecuente observar la coexistencia de dos poblaciones eritrocitarias, una con vida media prácticamente normal, y otra en la que el acortamiento de la misma es incluso inferior al límite de detección de la técnica[8,48].

Tratamiento

En la actualidad no existe tratamiento específico del déficit de PK (terapia génica) aunque en algún caso con anemia moderada o intensa se ha observado una respuesta parcial a la esplenectomía. En esos casos, el beneficio de la esplenectomía, aunque inferior al que se observa en la EH, puede significar un incremento tal de la concentración de la hemoglobina (10-20 g/L) que permita disminuir o incluso suprimir el requerimiento transfusional. Al igual que en la EH, en el déficit de PKR con hemólisis crónica manifiesta es siempre recomendable la administración profiláctica de ácido fólico para evitar la descompensación por agotamiento de las reservas y la aparición de una crisis megaloblástica.

Déficit de glucosa fosfato isomerasa (GPI)

La GPI cataliza la interconversión de fructosa-6-fosfato (F6P) y glucosa-6-fosfato (G6P) y, por ello, ocupa un lugar de encrucijada entre el metabolismo glicolítico y la vía de las pentosas-fosfato (fig. 4.15). Es la tercera eritroenzimopatía más frecuente después del déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) y PK, y se hereda con carácter autosómico dominante. Hasta la actualidad se ha descrito en unas 50 familias no emparentadas cuyas manifestaciones clínicas son superponibles a las del déficit de PK. La molécula en el eritrocito es un dímero con actividad enzimática pero en otros tejidos puede existir bajo forma de monómero, en cuyo caso puede realizar otras actividades diferentes como, por ejemplo, la de neurocina en el sistema nervioso central (actividad neurotrófica). Esto explica que en algunos casos de déficit hereditario de GPI junto a la expresividad hemolítica existan manifestaciones neurológicas de diversa índole entre las que destacan el retraso mental. No obstante, debido a la situación de la enzima en el metabolismo glucolítico, su déficit puede cursar excepcionalmente con crisis agudas de descompensación inducidas por la ingesta de fármacos oxidantes (hemólisis aguda medicamentosa). La clonación del gen *GPI*, situado en el cromosoma 19, ha permitido conocer su estructura exónica e intrónica, así como la identificación de mutaciones en general de una única base nitrogenada, cuya expresividad más frecuente es la síntesis de una enzima inestable[43,47].

Otras enzimopatías

La HK cataliza la conversión de glucosa a glucosa-6-fosfato (fig. 4.15). En el organismo humano existen tres genes que codifican para esta enzima (*HK1*, *HK2* y *HK3*). La enzima eritrocitaria es codificada por el gen HK1 y su déficit congénito, muy raro, sólo se ha descrito en unas 20 familias no emparentadas. Esta enzima, que es la de menor actividad en comparación con otras enzimas de la glucólisis, es muy influenciable por la reticulocitosis, por lo que su déficit puede pasar fácilmente desapercibido en la práctica clínica. El déficit de HK se transmite con carácter autosómico recesivo y, con frecuencia, se asocia con hemólisis e ictericia neonatal. Desde el punto de vista clínico, cursa con un cuadro de anemia hemolítica crónica de características similares al déficit de PK, pero de mayor intensidad, debido a la disminución concomitante (por bloqueo) del 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG), que al aumentar la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno disminuye la oxigenación de los tejidos (hipoxia). También cabe destacar que la anemia del déficit de HK suele ser especialmente intensa durante la primera infancia, pero la adaptación del organismo a la misma con el desarrollo, hace que estos enfermos puedan presentar un buen estado de tolerancia a pesar de la baja concentración de hemoglobina en sangre[43,47].

Déficit de fosfofructocinasa (PFK-M)

La PFK cataliza la fosforilación de fructosa-6-fosfato (F6P) a fructosa-1,6-difosfato (F1,6DP) y constituye, junto con la PK y la hexocinasa (HK), una de las enzimas «clave» o limitantes de la glucólisis anaerobia (fig. 4.15). Es mucho más rara que el déficit de glucosa fosfato isomerasa (GPI), aunque presenta cierta predilección por la raza judía askenazi[49]. Clínicamente, cursa con anemia hemolítica crónica, generalmente asociada a una miopatía de características clínicas y moleculares superponibles a la glucogenosis tipo VII o enfermedad de Tarui (debilidad muscular con intolerancia a mínimos esfuerzos, calambres, movimientos rítmicos incontrolables y mioglobinuria). La anemia hemolítica es muy leve o prácticamente inexistente en la mayoría de los casos, por lo que una de las primeras manifestaciones de la enzimopatía suele ser la mioglobinuria a pequeños esfuerzos, que suele confundirse fácilmente con la hemoglobinuria (orinas oscuras). Una alteración bioquímica del plasma con frecuencia asociada al déficit de PFK es el

aumento de la concentración de creatín cinasa (CK) e hiperuricemia, la cual puede facilitar la aparición de gota úrica. Otra asociación frecuentemente observada en el déficit de PFK-M es el ulcus duodenal.

La PFK humana es codificada por tres genes: *PFK M*, *PFK L* y *PFK P*, y en los tejidos puede hallarse bajo isoenzimas diferentes, resultado de la unión de las tres subunidades codificadas por dichos genes: M, L y P, respectivamente. En el tejido muscular existe una única isoenzima (M4), resultado de la unión de cuatro subunidades M idénticas, y en los eritrocitos cinco diferentes (M4, M3L1, M2L2, ML3 y L4), resultado de la combinación de las diferentes subunidades entre sí. El déficit de esta enzima obedece a mutaciones del gen *PFK M* (puntuales, pequeñas deleciones, de *splicing*, etc.) lo que explica la afectación sistemática y preferente del músculo esquelético (miopatía). La forma clínica con miopatía y anemia hemolítica crónica sólo se observa cuando la mutación produce una subunidad M muy inestable[43,47].

Déficit de fosfogliceratocinasa (PGK1)

La PGK cataliza la conversión de 1,3-difosfoglicerato (1,3-DPG) a 3-fosfoglicerato (3-PG), y constituye otra de las reacciones de la glucólisis en la que se produce una molécula de ATP (fig. 4.15). En el ser humano existen dos genes *PGK*, uno autosómico situado en el cromosoma 19 y que codifica la enzima testicular, y otro ligado al cromosoma X (Xq13), de distribución más generalizada y que codifica la enzima presente en las células sanguíneas. Al igual que en el déficit de G6PD, afecta esencialmente a varones hemicigotos, siendo las mujeres portadoras heterocigotas, generalmente asintomáticas.

Hasta la actualidad se han descrito unas 30 familias con déficit de PGK cuyas manifestaciones clínicas varían desde un carácter asintomático (PGK München) hasta la intensa anemia hemolítica asociada con neuropatía degenerativa grave, con convulsiones y retraso mental. La anemia aparece casi siempre de forma aguda (crisis hemolítica) y desencadenada por infecciones intercurrentes. El cuadro neurológico, que suele iniciarse hacia los cinco años de edad, consiste en retraso motor, afasia, labilidad psíquica y signos de afectación extrapiramidal. Existe también una forma de déficit de PGK en la que la anemia hemolítica, generalmente crónica, se asocia con una miopatía de intensidad variable, caracterizada por mialgia, debilidad muscular después del ejercicio, rabdomiólisis y hemoglobinuria. Esta forma clínica de déficit de PGK se caracteriza, al igual que el déficit de PFK, por un importante aumento de la actividad de la creatín cinasa (CK) plasmática[43,47].

Déficit de triosafosfato isomerasa (TPI1)

La TPI cataliza la transformación bidireccional (reacción reversible) del gliceraldehído 3 fosfato (GA3P) en dihidroxiacetona-fosfato (DHAP) (fig. 4.15). Esta enzima es codificada por un único gen situado en el brazo corto del cromosoma 12 (12p13), y su déficit, que constituye la eritroenzimopatía más grave, se hereda con carácter autosómico recesivo. Hasta la actualidad se ha descrito en unas 15 familias no emparentadas, y en todos los casos se ha caracterizado por anemia hemolítica de intensidad variable asociada con un cuadro neurológico muy grave y de inicio neonatal. El número relativamente escaso de casos descritos contrasta con la frecuencia de portadores heterocigotos asintomáticos, que se ha estimado en el 5% en la población de raza negra, y en el 0,1-0,5% en la caucásica. En España, la frecuencia del déficit de TPI se desconoce, aunque, a tenor de los hallazgos esporádicos hasta ahora publicados, no parece ser excepcional. Las formas graves de la enzimopatía corresponden a estados homocigotos o doble heterocigotos para dos alelos mutados diferentes, y en ellas debe señalarse que la hemólisis crónica, de intensidad variable, es poco importante en comparación con la gravedad del cuadro neurológico. Éste se caracteriza por espasticidad generalizada, discinesia, signos piramidales, hiperreflexia y temblor, junto con retraso del desarrollo psicomotor, miopatía e insuficiencia cardíaca. La gravedad de este cuadro neurológico es tal que los pacientes fallecen, generalmente por paro cardiorrespiratorio, antes de los 15 años de edad. Cabe destacar que esta enzimopatía puede cursar, además, con una importante disminución de la capacidad bactericida de los polinucleares neutrófilos, lo que facilita la aparición de frecuentes infecciones intercurrentes, que pueden complicarse y provocar cuadros clínicos de extrema gravedad. En todos estos casos, y dada la escasa expresividad hematológica acompañante, uno de los datos de laboratorio útiles para la orientación clínica es la existencia de eritrocitos espiculados (equinocitos) circulantes.

Gracias a la biología molecular, se ha podido clonar el gen e identificar, hasta la actualidad, cinco mutaciones diferentes, todas ellas debidas a la sustitución de una única base nitrogenada. La más frecuente es la mutación del codón 104 (GAG → GAC) que produce la sustitución del glutamato por aspartato, y actualmente es empleada en el diagnóstico prenatal de la enfermedad. Esta mutación va acompañada de una marcada inestabilidad molecular de la enzima deficiente.

Déficit de bisfosfogliceratomutasa (BPGM)

La BPGM es una enzima multifuncional que interviene en la síntesis del 2,3-DPG a partir del 1,3-BPG y el 3-PG, pero que debido a que posee también una actividad fosfasa, interviene en la transformación del 2,3-DPG a 3-PG (fig. 4.15). Por ello aunque el nombre oficial de esta enzima es el de mutasa (de hecho transforma 1,3-DPG en 2,3-DPG) se la conoce también con otros nombres entre los que el más apropiado es el 2,3-bisfosfoglicerato sintasa (BPGS) ya que su déficit produce, esencialmente, una disminución significativa del contenido eritrocitario en 2,3-DPG. El déficit total de BPGM, que se hereda con carácter autosómico recesivo, se ha descrito en sólo dos casos y su expresividad clínica es la de eritrocitosis o poliglobulia. Es por tanto la única eritroenzimopatía de la glicólisis que no se asocia a hemólisis o anemia hemolítica y su característica más destacada es el descenso del 2,3-DPG eritrocitario (< 3% de la normalidad). Ello explica el característico aumento de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno y por tanto la existencia de una eritrocitosis (poliglobulia) compensadora. Debido a su carácter multifuncional, esta enzimopatía se acompaña de una disminución

de aproximadamente el 50% de la actividad 3-fosfogliceratomutasa (PGM)[50].

Enzimopatías del metabolismo oxidorreductor

Estas enzimopatías pertenecen a diferentes vías metabólicas relacionadas todas ellas con el mantenimiento del glutatión en estado reducido (GSH): *a*) vía de las pentosas-fosfato (VPP); *b*) síntesis del glutatión, y *c*) sistema oxidorreductor del glutatión.

El mecanismo fisiopatológico de la hemólisis en este grupo de enzimopatías es la pérdida del poder reductor eritrocitario frente a la acción de diferentes sustancias oxidantes que se generan en el interior del eritrocito o proceden del exterior (peróxido de hidrógeno, radical superóxido y otros radicales oxidantes). En ausencia de un adecuado sistema oxidorreductor, estas sustancias condicionarían la desnaturalización de la hemoglobina y otras proteínas eritrocitarias, y producirían una hemólisis inmediata.

La hemoglobina desnaturalizada precipita en el interior del eritrocito bajo la forma de «cuerpos de Heinz» (fig. 8.23), y la espectrina tiende a formar agregados proteicos insolubles que modifican las propiedades reológicas de la membrana. En cualquier caso, el efecto es un aumento de la rigidez eritrocitaria y una gran disminución de la deformabilidad.

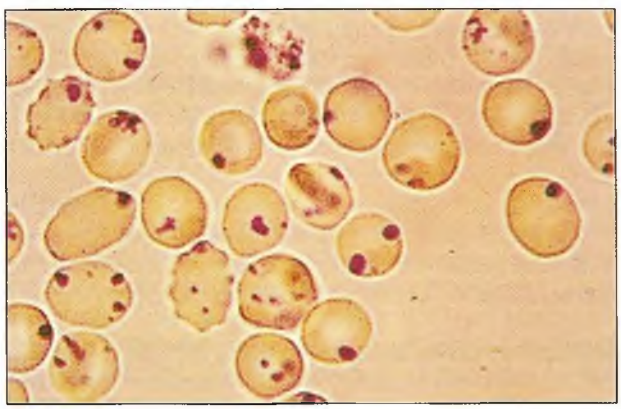


Figura 8.23. Precipitados de hemoglobina desnaturalizada (cuerpos de Heinz) inducidos por incubación de los eritrocitos frente a la acetilfenilhidrazina (AFH) en un paciente con déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) y favismo.

Dentro de este grupo de enzimopatías destaca, como más importante, el déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD), enzima reguladora de la VPP. Entre las enzimopatías relacionadas con la síntesis del glutatión se han descrito el déficit de glutatión-sintetasa (GS) y el de gamma-glutamilcisteín sintetasa (GCS). Finalmente, dentro del sistema oxidorreductor del glutatión se han descrito dos enzimopatías: el déficit de glutatión-peroxidasa (GP) y el de glutatión-reductasa (GR), cuya contribución al desarrollo de anemia hemolítica es excepcional, especialmente en el caso de la GP.

Déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD)

La G6PD cataliza la primera reacción de la llamada vía de las pentosas-fosfato (fig. 4.15), y su función principal es la de proteger al eritrocito frente a los agentes oxidantes. El déficit de G6PD presenta una transmisión hereditaria ligada al cromosoma X, y constituye la eritroenzimopatía más frecuente y la mejor conocida, habiéndose estudiado tanto clínica como molecularmente en un elevado número de grupos étnicos[51]. La elevada frecuencia del déficit de G6PD explica su elevado polimorfismo genético, expresión de mutaciones diferentes de un gen situado en el cromosoma X. Por ello, la transmisión hereditaria del déficit de G6PD se halla ligada al sexo, siendo los varones hemicigotos los que mayormente pueden padecer el trastorno. Las mujeres pueden ser portadoras heterocigotas, homocigotas o doble-heterocigotas, comportándose en los dos últimos casos como los varones hemicigotos. Debido al fenómeno de inactivación cromosómica durante el desarrollo embrionario (fenómeno de Lyon), el mosaicismo, generalmente equilibrado (50% de actividad) de las portadoras heterocigotas, puede conllevar una mayor expresión del cromosoma X normal, con lo que la actividad residual de la enzima en los eritrocitos puede superar el 70% e incluso llegar al 100% del cromosoma portador de la mutación, en cuyo caso la actividad suele hallarse por debajo del 30%, o igual a la del estado homocigoto (0%). En el primer caso, la detección del déficit resulta totalmente imposible, a no ser que el estudio familiar demuestre el carácter de portadora forzosa. En el segundo caso, se observa un comportamiento clínico superponible al del varón hemicigoto.

Prevalencia y distribución geográfica

A diferencia del déficit de PK, la incidencia del déficit de la G6PD es mayor en determinadas razas (negra, caucásica del área mediterránea y asiática), y es especialmente frecuente en ciertas regiones de España donde su incidencia puede situarse alrededor del 0,1%. La relación entre el déficit de G6PD y el paludismo endémico es un hecho bien conocido, y es precisamente esta enfermedad la que ha ejercido una presión genética positiva en favor de la prevalencia de la enzimopatía en nuestro país.

Mecanismo molecular

Desde la estandarización de los métodos bioquímicos para la caracterización fenotípica de las enzimas deficientes a partir de extractos semipurificados por la OMS en el año 1967[52], se han descrito más de 400 variantes consideradas como diferentes. De acuerdo con los resultados obtenidos de la caracterización molecular y su correspondiente expresividad clínica, las variantes de G6PD se han clasificado en cinco grandes grupos (tabla 8.15). Las variantes del grupo I son poco frecuentes, y se caracterizan por presentar un síndrome hemolítico crónico de intensidad variable y comportamiento clínico similar al déficit de PK. Estas variantes presentan alteraciones cinéticas graves que las hacen inviables, y desaparecen progresivamente de la población. Por ello, son muy raras y constituyen un hallazgo esporádico y único. En algún caso, la alteración de la G6PD leucocitaria explica la coexistencia de un defecto funcional de los leucocitos y un síndrome similar a la enfermedad granulomatosa crónica[53]. Las variantes de los grupos II y III son las más frecuentes (variantes polimorfas), y se caracterizan por ser

TABLA 8.15

Clasificación clinicomolecular de las variantes de G6PD según la Organización Mundial de la Salud (OMS)

Grupo o clase	Actividad en eritrocitos (%)	Actividad en leucocitos (%)	Expresividad clínica	Ejemplos
1 (I)	0	0	Anemia hemolítica crónica Infecciones de repetición	**Variantes raras** G6PD Barcelona
2 (II)	0-5	20-60	Asintomáticas o Anemia aguda medicamentosa Favismo	**Variantes mediterráneas** G6PD Mediterránea **Variantes Asiáticas** G6PD Cantón
3 (III)	5-15	60-80	Asintomáticas o Anemia aguda medicamentosa Favismo	**Variantes africanas** G6PD A– G6PD Bética (A–)
4 (IV)	100	100	Asintomáticas	**Enzimas normales** G6PD B+ y G6PD A+
5 (V)	130	150	Asintomáticas	**Variantes hiperactivas** G6PPD Hecktoen

asintomáticas hasta que el paciente entra en contacto con un agente oxidante. En este caso, sobreviene una crisis hemolítica de intensidad variable, pero siempre limitada por cuanto una vez cesa el estímulo se produce una rápida recuperación. Las variantes del grupo II afectan preferentemente a los individuos que habitan en el litoral mediterráneo, y se caracterizan por una actividad G6PD eritrocitaria muy disminuida (< 1%). Dentro de este grupo de variantes destaca por su frecuencia la G6PD mediterránea, propia de los habitantes de esta área geográfica. Una forma clínica peculiar, muy frecuente dentro de este grupo de variantes, es el favismo o hemólisis aguda después de la ingesta de habas (o inhalación del polen). El favismo puede presentarse a cualquier edad, e incluso después de haber tenido contactos previos indolentes con habas, aunque las personas más susceptibles son los niños de menos de 5 años. El mecanismo de la hemólisis en el favismo se atribuye al efecto de ciertos derivados de las habas (divicina e isouramilo) con potente acción oxidante. Estas variantes se caracterizan por ser inestables, pero debido a su adaptación molecular al déficit, perduran en la población durante períodos de tiempo muy prolongados. Las variantes del grupo III afectan preferentemente a los sujetos de raza negra (G6PD A–) y asiática (G6PD Cantón) y se caracterizan por presentar una actividad residual eritrocitaria superior a la del grupo anterior (10-15%). En las variantes asiáticas y las variantes G6PD A– de la raza blanca (G6PD Bética, Matera, Castilla y otras) el favismo constituye también la manifestación clínica predominante, lo que demuestra su relación con aquellas poblaciones en las que las habas constituyen un componente habitual de la dieta. Las variantes del grupo IV presentan una actividad normal, y por ello son totalmente asintomáticas. Entre ellas destaca la variante A+ de la raza negra que se distingue de la enzima normal (G6PD B+) por su mayor movilidad electroforética. Finalmente, las variantes del grupo V se caracterizan por un aumento de actividad (G6PD Hektoen).

La clonación del gen *G6PD* y la obtención del correspondiente DNAc ha permitido identificar la mutación implicada en más de 250 de las variantes descritas en función de sus propiedades cinéticas. Con ello se ha demostrado que muchas de las variantes en las que la caracterización bioquímica las había calificado como diferentes son, en realidad, la misma, y otras que eran consideradas únicas son, en realidad, polimórficas. El gen de la G6PD consta de 13 exones, con sus correspondientes intrones, y hasta el momento se han descrito unas 100 mutaciones diferentes, mayoritariamente exónicas. Así, la variante G6PD A– se caracteriza por presentar dos mutaciones diferentes, una constante y común a la de la variante G6PD A+ (nucleótido 376 A → G), y otra variable de la que, hasta el momento, se han descrito cuatro tipos: 202 G → A (90% de los casos), 680 G → T, 968 T → C (9%) y 95 G → A (1%). La variante G6PD mediterránea presenta una mutación característica (563 C → T), que difiere de la de otras variantes halladas también en el área mediterránea como, por ejemplo, la variante G6PD Seattle (tabla 8.16). Dado que tanto en el caso de la variante G6PD A– como en el de la G6PD mediterránea las mutaciones crean una diana de restricción, es posible su rápida detección mediante la técnica de la PCR[54].

Manifestaciones clínicas

El déficit de G6PD es asintomático, excepto cuando el organismo entra en contacto con algún agente capaz de descompensar el precario equilibrio oxidativo del eritrocito. En este caso, la expresividad clínica consiste en una anemia hemolítica intensa y de aparición brusca, acompañada de orinas oscuras (hemoglobinuria), cefalea, fiebre e ictericia, pocas horas después (a veces 24 o 48 horas) de la ingesta de ciertos medicamentos o habas (tabla 8.17). Otros factores desencadenantes de hemólisis aguda en el déficit de G6PD son las infecciones, en especial la neumonía bacteriana, la hepatitis aguda y también trastornos metabólicos diversos, entre los que destaca la cetoacidosis diabética. La ictericia neonatal, a veces grave, es relativamente frecuente en el déficit de G6PD, especialmente en casos de variantes muy deficientes. Con mucha menor frecuencia, el déficit de

TABLA 8.16

Mutaciones de las variantes más frecuentes de G6PD

Variantes	Base nitrogenada mutada		Aminoácido cambiado		Clasificación según la OMS
1. MEDITERRÁNEAS					
G6PD MEDITERRÁNEA	563	C → T	188	Ser → Phe	2 (II)
G6PD SEATTLE	844	G → C	282	Asp → His	2 (II)
2. AFRICANAS					
G6PD A+	376	A → G	126	Asn → Asp	4 (IV)
G6PD A–	376	A → G	126	Asn → Asp	
		y		y	
	202	G → A	68	Val → Met	3 (III)
	680	G → T	227	Arg → Leu	3 (III)
	968	T → C	323	Leu → Pro	3 (III)
	95	A → G	32	His → Arg	3 (III)
3. ASIÁTICAS					
G6PD CANTÓN	1376	G → T	459	Arg → Leu	2 (II)

TABLA 8.17

Medicamentos con actividad oxidante y efecto hemolítico en el déficit de G6PD

Medicamentos con actividad oxidante y efecto hemolítico bien demostrado	Medicamentos con actividad oxidante pero de efecto hemolítico no bien demostrado*	
Acetanilida	Acetaminofeno	Fitonadiona (vitamina K)
Azul de metileno	Ácido acetilsalicílico	Probenecid
Ácido nalidíxico	p-aminobenzoico	Procainamida hidroclórica**
Naftaleno	Aminopirina	Quinidina
Niridazol	Antazolina	Quinina
Nitrofurantoína	Ácido ascórbico	Estreptomicina
Pentaquina	Cloranfenicol**	Sulfacitina
Fenilhidracina	Clorguanidina	Sulfadiacina
Primaquina	Colchicina	Sulfaguanidina
Sulfacetamida	Difenilhidracina	Sulfameracina
Sulfametoxazol	L-DOPA	Sulfametoxipiridacina
Sulfanilanida	Isoniacida	Sulfisoxazol
Sulfapiridina	Menadiona	Trihexifenidil
Tiazolsulfona	Fenacetina	Trimetoprima
Azul de toluidina	Fenilbutazona	Tripelenamina
Trinitrotolueno	Fentoína	Primetacina

*Pueden suministrarse en dosis terapéuticas.
**Efecto hemolítico no observado en la raza negra.

G6PD puede cursar con un síndrome hemolítico crónico, cuyas características clínicas son superponibles a las descritas en el déficit de PK (anemia regenerativa, ictericia, esplenomegalia, trastornos óseos y litiasis biliar).

Diagnóstico

Al igual que en cualquier eritroenzimopatía, el diagnóstico requiere siempre la demostración del déficit mediante determinación de la actividad enzimática a partir del hemolizado, que en este caso va acompañado también de una gran disminución del glutatión reducido (GSH) eritrocitario, con inestabilidad frente a la acetilfenilhidrazina (APH). En esta enzimopatía son de gran ayuda diagnóstica los antecedentes de ingesta medicamentosa o de habas algunas horas o días antes de la crisis hemolítica.

Igualmente, si se consigue observar la morfología eritrocitaria inmediatamente después de la crisis de hemólisis, aparecerán algunos eritrocitos de morfología peculiar y caracterizada por el desplazamiento de la hemoglobina hacia uno de los extremos o excentrocitosis (fig. 8.24). El mecanismo de este fenómeno se desco-

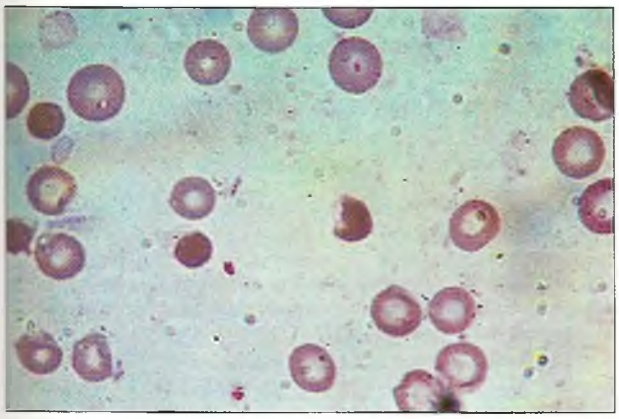


Figura 8.24. Sangre periférica (MGG ×800) de un paciente con anemia hemolítica aguda y hemoglobinuria después de la ingesta de habas (favismo). Se aprecia un microesferocito (*izquierda*) y dos excentrocitos o eritrocitos con la hemoglobina desplazada hacia uno de los extremos (*centro*).

noce, aunque se atribuye al efecto que sobre la hemoglobina ejerce el descenso del poder reductor eritrocitario, el cual puede valorarse indirectamente mediante la determinación del GSH (muy disminuido) y la formación de cuerpos de Heinz[8].

Tratamiento

El déficit de G6PD carece de tratamiento etiológico, y siempre debe ser paliativo, mediante transfusiones sanguíneas cuando la situación hematológica lo requiera. Una vez establecido el diagnóstico, debe procurarse evitar el contacto del paciente con todas aquellas sustancias capaces de desencadenar el cuadro hemolítico. En la tabla 8.17 se detallan los medicamentos con actividad hemolítica bien demostrada y que el paciente debe evitar en lo posible. Asimismo, se hace referencia también a otro grupo de medicamentos que, aunque potencialmente peligrosos en el déficit de G6PD, pueden ser administrados cuando resulta imprescindible, siempre que no se superen las dosis terapéuticas correspondientes. En caso de anemia crónica, el tratamiento no difiere del descrito para el déficit de PK, y la esplenectomía sólo es beneficiosa en un porcentaje muy limitado de casos.

Otras enzimopatías

A excepción del déficit de G6PD y el de glutatión-sintetasa, las restantes enzimopatías del metabolismo oxidorreductor son excepcionales. Su expresividad clínica suele ser siempre la de una anemia hemolítica, generalmente aguda, desencadenada por la ingesta de agentes oxidantes. En el déficit de las enzimas que intervienen en la síntesis del glutatión: γ-glutamil-cisteín-sintetasa (GCS) y glutatión-sintetasa (GS), el síndrome hemolítico es casi siempre de tipo crónico. En algunos casos de déficit de GS, la hemólisis crónica va acompañada de un cuadro de acidosis metabólica, con eliminación urinaria de ácido piroglutámico u oxoprolina (piroglutanuria u oxoprolinuria) (fig. 8.25). Excepcionalmente, el déficit de GCS puede ir acompañado de neuropatía grave. Aunque con ciertas variaciones de un enfermo a

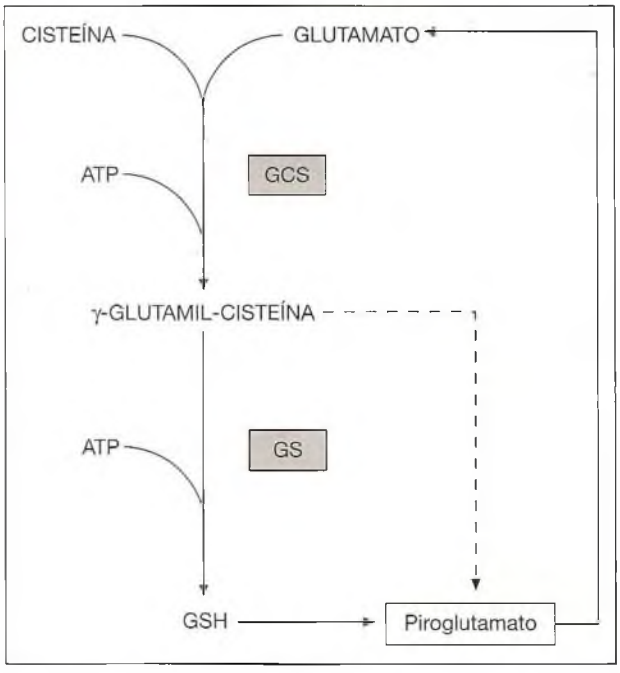


Figura 8.25. Mecanismo de la piroglutanuria (oxoprolinuria) o eliminación de ácido piroglutámico por la orina en el déficit de síntesis del glutatión.

otro, la anemia suele ser poco intensa, y puede agravarse por efecto de sustancias oxidantes (medicamentos y también la divicina). El déficit de glutatión-reductasa (GR) es de observación relativamente frecuente en el curso de diversas enfermedades acompañadas de una disminución del nivel de riboflavina (vitamina B_2). Por ello, la medida de esta actividad enzimática puede ser empleada en la práctica como una forma indirecta de conocer la concentración de vitamina B_2 en el organismo. Con todo, existe un único caso descrito de déficit congénito de GR y hemólisis aguda tras la ingesta de habas que, junto con la alteración eritrocitaria, se acompaña de cataratas[55].

Enzimopatías del metabolismo nucleotídico

Dado que el eritrocito carece de mecanismos para la síntesis *de novo* de nucleótidos adenílicos (AMP, ADP y ATP), todas aquellas enzimas que de alguna forma eviten su degradación o intervengan en su metabolismo adquieren gran importancia funcional. Tal sucede con la pirimidina-5'nucleotidasa (P5N), adenosinadesaminasa (ADA) y adenilato-cinasa (AK).

Déficit de pirimidina-5'nucleotidasa (P5N)

La P5N es una fosfatasa específica para los nucleótidos pirimidínicos (UMP y CMP) cuyo déficit condiciona su acumulación intraeritrocitaria y la probable inhibición de enzimas «clave» de la glucólisis, así como de las que intervienen en la degradación enzimática del RNA ribosómico. El déficit congénito de P5N se transmite con carácter autosómico recesivo, y constituye una causa de anemia hemolítica crónica cuya frecuencia se ha situado por detrás del déficit de glucosa-fosfato isomerasa

(GPI). Debido a la incompleta degradación del RNA intraeritrocitario, esta enzimopatía va acompañada de un intenso punteado basófilo eritrocitario muy característico (fig. 8.26), lo que constituye un dato clínico de gran utilidad diagnóstica. Por mecanismo aún desconocido, el déficit de P5N va acompañado de un aumento característico del GSH[56].

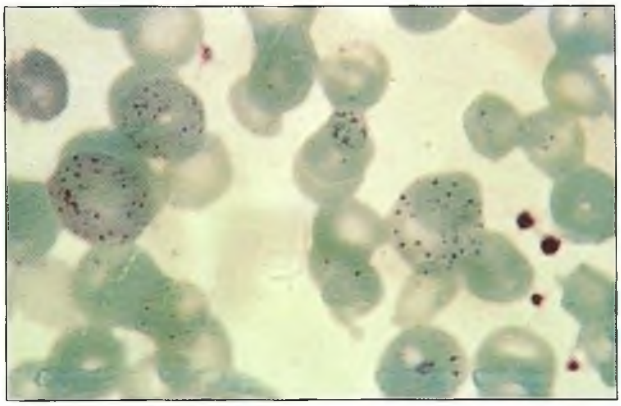


Figura 8.26. Punteado basófilo característico del déficit de pirimidina 5'-nucleotidasa (P5N).

Junto al mecanismo congénito, se ha descrito también una disminución adquirida de la actividad P5N en la intoxicación por plomo (saturnismo) que, dada su elevada sensibilidad, puede emplearse en clínica para detectar la exposición laboral o de otra índole a este metal. El saturnismo es una forma de porfiria adquirida, acompañada de una alteración exclusiva de la eritropoyesis, secundaria a una intoxicación por plomo (Pb). El plomo inhibe simultáneamente tres enzimas del metabolismo de síntesis del grupo hemo: *a*) δ-ALA-deshidrasa; *b*) protoporfirinógeno-oxidasa, y *c*) hemosintetasa. Un dato muy constante en el saturnismo es un intenso punteado basófilo de los eritrocitos, el cual se atribuye al efecto inhibidor del plomo sobre la pirimidina 5'-nucleotidasa (P5N). Se ha demostrado que la actividad P5N eritrocitaria es muy sensible a pequeños aumentos de la concentración de plomo, por lo que su determinación es útil en el diagnóstico de la intoxicación crónica del mismo, incluso en ausencia de anemia o de otras manifestaciones clínicas propias del estado de intoxicación aguda. Otra situación en la que el punteado basófilo puede atribuirse al déficit adquirido de P5N es la talasemia. En esta enfermedad hereditaria, caracterizada por un aumento de la oxidación eritrocitaria, la inhibición de la P5N por el exceso de peróxidos generados por la membrana eritrocitaria y el desequilibrio en la síntesis de cadenas de globina, podría constituir también un mecanismo de acúmulo de ribonucleótidos en el interior del eritrocito y, por tanto, del punteado basófilo que, como es sabido, constituye uno de los aspectos hematológicos más característicos de la talasemia[57].

Aumento de la actividad adenosinadesaminasa (ADA)

Esta alteración de la actividad enzimática oscila entre 40-70 veces la normal, y se ha observado asociada con un síndrome hemolítico crónico que se transmite con carácter autosómico dominante. El descenso del *pool* de nucleótidos adenílicos eritrocitarios (ATP, AMP y ADP) es, probablemente, el mecanismo fisiopatológico de la hemólisis.

Se ha descrito también un aumento de la ADA en la enfermedad de Diamond Blackfan, lo que puede ser útil en el diagnóstico y detección de portadores[58].

BIBLIOGRAFÍA

1. Adamson JW. Anemia and Polycytemia. En: Kaasper DL. Braunwald (ed.). Harrison´s principles of internal medicine, 16.ª ed. New York: McGraw-Hill, 2005; 329-336.
2. Glader B. Anemia: general considerations. En: Wintrobe´s Clinical Hematology, 11.ª ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004; 947-978.
3. Tefferi A. Anemia in adults: a contemporary approach to diagnosis. Mayo Clin Proc 2003; 78:1274-1280.
4. Hernández Nieto L, Hernández García MT, Juncá Piera J. Vives-Corrons JL, Martín-Vega C. Enfermedades del sistema eritrocitario: anemias. En: Farreras Valentí P, Rozman C (eds.). Medicina interna. Barcelona: Elsevier, 2004; 1644-1669.
5. Dacie J. The Haemolytic Anaemias. Vol 1. The Hereditary Haemolytic Anaemias, 3.ª ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1985.
6. Young N. Hematologic and hematopoietic consequences of B19 parvovirus infection. Semin Hematol 1988; 25:159-170.
7. Gasser C. Aplasia of erythropoiesis: acute and chronic erythroblasopenias or pure (red cell) aplastic anaemias in childhood. Pediat Clin N Amer 1957; 4:445-468.
8. Vives JLI, Aguilar JLI. Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología, 2.ª ed. Barcelona: Masson S.A., 1997.
9. Beutler E, Luzzatto L. Hemolytic anemia. Semin Hematol 1999 Oct; 36(4 Suppl 7):38-47.
10. Marchand A, Galen RS S, Van Lente F. The predictive value of serum haptoglobin in hemolytic disease. JAMA 1980; 243: 1909-1911.
11. Mayayo Crespo M, Pintado Cros T, Echeverria Porturas V. Protocolo diagnóstico de la anemia hemolítica. Medicine 2001; 8(51):2719-2721.
12. Rosen H, Sears DA. Spectral properties of hemopexin-heme. The Schumm test. J Lab Clin Med 1969; 74:941-945.
13. Erslev, AJ. Clinical manifestations and classification of erythrocyte disorders. En: Williams Hematology. Beutler E, Lichtman MA, Coller BS Kipps TJ Seligsohn M (eds.), 6.ª ed. New York: McGraw Hill, 2001; 369-374.
14. Lewis SM. Bain B. Bates I, Dacie J. Dacie and Lewis's Practical Haematology, 9.ª ed. Edinburgh: Churchill-Livingstone, 2001.
15. Ricard Andrés MP. Protocolo de valoración diagnóstica de la anemia normocítica. Medicine 2001; 8(50):2659-2661.
16. Berga L, Vives Corrons JL, Feliu E, Woessner S, Rozman C. Hemorreología. Bases teóricas y aplicaciones clínicas. Barcelona: Salvat, 1983.
17. Glader BE, Lukens JN. Hereditary Spherocytosis and other anemias due to abnormalities of the Red Cell Membrane. En: Wintrobe's Clinical Hematology. Lee R, Forester J, Lukes J et al (eds.), 10.ª ed. Williams & Wilkins, 1999; 1133-1159.
18. Gallagher P, Jarolim P. Red Cell Membrane Disorders. En: Hematology. Basic Principles and Practice. Hoffman R. Benz EB, Shattil S, Furie B, Cohen HI, Silberstein LE, Mc Glave P (eds.). Elsevier 4.ª ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005; 669-691.
19. Samuel E, Lux, Juri Palek. Disorders of the Red Cell Membrane En: Handin RI, Lux SE, Stossel TP (eds.). Blood Principles and Pratice of Hematology. Philadelphia: J.B. Lippincott Company, 1995.
20. Delaunay J. Genetic disorders of the red cell membrane. En: Jameson JL (ed.). Principles of Molecular Medicine. Humana Press Inc. Totowa NJ, USA, 1998; 191-195.

CAPÍTULO 9

Hemoglobinopatías estructurales

J. L. Vives Corrons

ÍNDICE

Introducción
Hemoglobinopatías estructurales
Nomenclatura
Prevalencia y distribución geográfica
Mecanismo molecular
Mutaciones puntuales
Inserciones o deleciones
Mutaciones del codón de terminación
Hibridación anómala entre dos cadenas de globina
Clasificación de las hemoglobinopatías
Hemoglobinopatías con alteración de carga superficial
Hemoglobinopatías inestables
Hemoglobinopatías con afinidad alterada por el oxígeno
Metahemoglobinemias
Hemoglobinopatías talasémicas
Hemoglobinopatías con alteración de carga superficial
Hemoglobinopatía S (HbS)
Incidencia y distribución geográfica
Fisiopatología
Manifestaciones clínicas
Diagnóstico de la anemia falciforme
Electroforesis de hemoglobinas
Pronóstico y prevención
Tratamiento
Hemoglobina C (HbC)
Otras hemoglobinopatías con alteración de carga superficial
Hemoglobinopatías inestables
Mecanismo molecular y fisiopatología
Manifestaciones clínicas
Diagnóstico
Tratamiento
Hemoglobinopatías con alteración de la afinidad por el oxígeno
Mecanismo molecular y fisiopatología
Manifestaciones clínicas
Diagnóstico
Tratamiento
Hemoglobinopatías M
Diagnóstico
Tratamiento
Prevención y diagnóstico prenatal de las hemoglobinopatías y talasemias
Bibliografía

INTRODUCCIÓN

Las hemoglobinopatías son defectos de la hemoglobina que, en su gran mayoría, se transmiten con la herencia (hemoglobinopatías congénitas). Existe también un grupo reducido de hemoglobinopatías que pueden aparecer en el curso de ciertas enfermedades (hemoglobinopatías adquiridas). Las hemoglobinopatías congénitas obedecen a mutaciones en los genes que codifican la síntesis de cadenas de globina, y su consecuencia puede ser:

1. Síntesis de una hemoglobina anómala, estructuralmente diferente a la hemoglobina normal (hemoglobinopatías estructurales).
2. Disminución de la síntesis de hemoglobina normal (talasemias).
3. Ambos defectos simultáneamente (hemoglobinopatías talasémicas).
4. Persistencia hereditaria de hemoglobina fetal (PHHF).

La PHHF obedece a defectos en la interconversión de HbF a HbA durante el desarrollo, y se caracteriza por la síntesis de HbF durante la vida adulta. Aunque carece de expresividad clínica, la PHHF constituye un modelo muy útil para el estudio de la regulación de los cambios genéticos que acompañan al desarrollo[1].

En las hemoglobinopatías estructurales, las mutaciones del gen β son más frecuentes que las del gen α, y ambos genes son alelos entre sí, por lo que pueden compartir dos mutaciones diferentes (doble heterocigoto) o idénticas (homocigoto). Cuando sólo uno de los alelos presenta la mutación, se trata de un estado heterocigoto. La transmisión hereditaria de las hemoglobinopatías es, en general, autosómica codominante, lo que significa que un individuo heterocigoto expresa tanto la hemoglobina normal como la mutada. Dado que el ser humano posee dos genes β y cuatro α, si la mutación afecta al gen β se observa el 50%, aproximadamente, de cada una de las fracciones (normal y patológica), mientras que si se halla

afectado un solo gen α existirá sólo el 25% de hemoglobina patológica. Desde el punto de vista clínico, las hemoglobinopatías sólo se expresan en estado homocigoto o doble heterocigoto y, por lo general, el estado heterocigoto es asintomático. La excepción que confirma esta regla son las hemoglobinopatías inestables, en las que la expresividad clínica del defecto aparece ya en estado heterocigoto. Por tanto, a excepción de estas últimas, la expresividad clínica de las hemoglobinopatías sigue un patrón autosómico recesivo. Finalmente, las combinaciones entre genes no alélicos (α y β, por ejemplo) puede producir diferentes formas de expresividad clínica que difieren entre sí por la intensidad de la anemia hemolítica o el patrón electroforético de hemoglobinas[1,2]. Las diferentes mutaciones de las hemogobinopatías descritas hasta la actualidad pueden consultarse en la web: http://globin.cse.psu.edu/globin/hbvar/menu.html.

HEMOGLOBINOPATÍAS ESTRUCTURALES

Una hemoglobinopatía estructural obedece a una alteración en la secuencia de los aminoácidos de una de sus cadenas globínicas (estructura primaria), cuya consecuencia puede ser una alteración de las propiedades moleculares (físicas o químicas). Aunque el sufijo «patía» hace pensar en que todas estas hemoglobinopatías se traducen en un padecimiento para el enfermo, es decir, en enfermedad, esto no es así, ya que en su gran mayoría son asintomáticas, es decir, que el cambio estructural carece de repercusión clínica. La detección de algunas de estas hemoglobinopatías ha sido posible gracias a un cambio en su carga eléctrica superficial, que hace posible identificarlas mediante electroforesis (fig. 9.1). De las que presentan expresividad clínica, aunque ésta puede ser variable, el denominador común es la anemia hemolítica. Hoy día se sabe que, aproximadamente, el 7% de la población mundial (alrededor de 400 millones de personas) se halla afectada de una hemoglobinopatía, y que cada año nacen unos 500.000 niños portadores heterocigotos de hemoglobinopatías. Asimismo, se conocen alrededor de 1.000 hemoglobinopatías diferentes que, en realidad, representan sólo entre el 10-15% de las teóricamente posibles. De ellas, sólo cuatro, debido a su especial frecuencia e importancia clínica, ocupan un lugar destacado: HbS, HbC, HbE y HbD Punjab. Cabe destacar que, al igual que otras enfermedades hereditarias del eritrocito, algunas de estas hemoglobinopatías ejercen, en estado heterocigoto, un efecto protector contra la infección por el parásito del paludismo (malaria). Ello ha realzado aún más la importancia del estudio de las hemoglobinopatías como enfermedades hereditarias monogénicas de interés clínico.

La hemoglobinopatía estructural de mayor importancia clínica es, sin duda, la HbS, ya que supone un grave problema de salud pública en muchos países del mundo. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), este problema puede agravarse aún más si no se aplican medidas preventivas mediante consejo genético.

El mecanismo genético de las hemoglobinopatías estructurales puede ser de cuatro tipos: *a*) sustitución de un aminoácido por otro, como sucede con la HbS o HbC y la gran mayoría de las hemoglobinas anormales; *b*) deleción de un fragmento de la secuencia de aminoácidos (Hb Gun Hill); *c*) alargamiento de una cadena de globina (Hb Constant Spring), y *d*) hibridación anómala entre dos cadenas de globina (Hb Lepore). Las mutaciones pueden afectar a cualquiera de las cadenas de globina; cadena alfa (p. ej., $HbG_{Philadelphia}$), cadena beta (HbS, HbC), cadena gamma (HbF_{Texas}), o cadena delta ($HbA_{2\,Flatbush}$).

Nomenclatura

Desde que, en 1910, Herrick describiera por vez primera la anemia falciforme en un estudiante de raza negra[3], y años más tarde, Pauling identificara la hemoglobinopatía S como causa de la misma[4], el progreso en el conocimiento de las hemoglobinopatías no ha cesado de aumentar. Su nomenclatura, basada inicialmente, en las letras del abecedario (A, B, C, etc.) ha sido sobrepasada por el enorme número de nuevas hemoglobinopatías, y ha tenido que ser sustituida por otros sistemas diversos, difíciles de sistematizar. Finalmente, junto con la nomenclatura común se ha

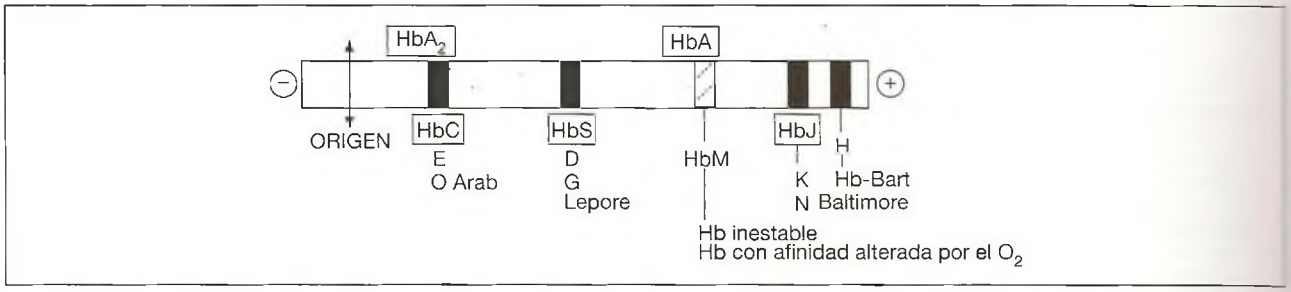


Figura 9.1. Electroforesis de hemoglobinas en acetato de celulosa (pH: 8,9). Desde el origen, las hemoglobinas se desplazan hacia el cátodo (polo positivo) y de acuerdo con su posición respecto a la HbA normal se clasifican en variantes lentas, rápidas o de migración normal. Se representan aquí algunas de las hemoglobinopatías más interesantes desde el punto de vista clínico:
Variantes lentas. Migran por detrás de la HbA pero por delante de la HbA_2: HbS, HbD, HbG y Hb Lepore y en la misma posición que la HbA_2: HbC, HbE y HbO Arab.
Variantes rápidas. Migran inmediatamente por delante de la HbA: HbJ, HbK y HbN y algo más lejos: HbH, Hb Bart y Hb Baltimore.
Variantes de migración normal. Migran igual que la HbA: HbM, Hb inestables y Hb con afinidad alterada por el oxígeno.
La HbF es una variante normal que migra inmediatamente por detrás de la HbA, pero en el adulto no se detecta electroforéticamente debido a su escasa concentración.

propuesto una nomenclatura científica basada en que cada variante se designa por la cadena de globina mutada, el número secuencial del AA mutado (con su correspondiente segmento helicoidal) y la naturaleza de la mutación. Por ejemplo, para el caso de la hemoglobinopatía S, la denominación común (HbS) va acompañada de la nomenclatura científica: β6(A3)Glu → Val, con lo que la denominación final es: HbS β6(A3)Glu Val. La HbC Harlem, que tiene dos mutaciones, se designa: β6(A3)Glu → Val; 73(E17)Asp → Asn. Las deleciones se expresan indicando el intervalo de AA perdidos por la sigla «0» en lugar del AA mutado: HbTochigi β56-59(D7-E3) o HbFreiburg β23(B5) Val → 0. Las variantes con cadenas fusionadas, como la Hb Lepore, por ejemplo, siguen una nomenclatura similar a la de las deleciones: δ(1-87) β(116-146). Finalmente, en las variantes con elongación de la cadena globínica como, por ejemplo, la Hb Tak se emplea el signo «+» seguido del número de AA adicionados: β + 11C.

El International Hemoglobin Information Center de Augusta, Georgia, EE.UU. publica regularmente en la revista *Hemoglobin* un catálogo actualizado de todas las hemoglobinopatías estructurales descritas[5] (http://e20.manu.edu.mk/rcgeb/ihic).

Prevalencia y distribución geográfica

La prevalencia global de las principales hemoglobinopatías más frecuentes en la población mundial es de aproximadamente el 0,2%. Esta cifra tiende a aumentar gracias al progreso de la lucha contra la pobreza, la desnutrición, las enfermedades infecciosas y la mortalidad infantil, lo que puede significar un empeoramiento de la situación generada por estas enfermedades hereditarias en los países del tercer mundo o en vías de desarrollo. En determinadas razas o áreas geográficas, la prevalencia de las hemoglobinopatías guarda relación con la incidencia del paludismo endémico (*P. falciparum*). Tal sucede, especialmente, con las hemoglobinopatías más frecuentes y de mayor interés clínico: HbS, HbC, HbE y HbD Punjab. Aunque todas ellas son especialmente frecuentes en la raza negra, en especial la HbS y HbC, la HbE es común en el sudeste asiático, y la HbD Punjab lo es en India y Extremo Oriente (fig. 9.2). La HbS y HbC pueden afectar también a la raza blanca, y su incidencia es variable en diferentes regiones del área mediterránea como, por ejemplo, Grecia, Chipre, sur de Italia, Sicilia, España y Portugal. En España, las áreas con especial incidencia de ambas hemoglobinopatías son Andalucía y Extremadura[6].

Mecanismo molecular

Las hemoglobinopatías estructurales pueden obedecer a cuatro tipos de mutaciones:

Mutaciones puntuales

Se conocen también como sustitución simple porque afectan a un único nucleótido de los tres que forman un codón. La consecuencia es un cambio de una base nitrogenada por otra diferente con alteración de un codón que, la mayoría de las veces, se traduce en la simple sustitución de un aminoácido por otro en la estructura de la hemoglobina. Las mutaciones puntuales pueden ser homólogas (cambio purina-purina o pirimi-

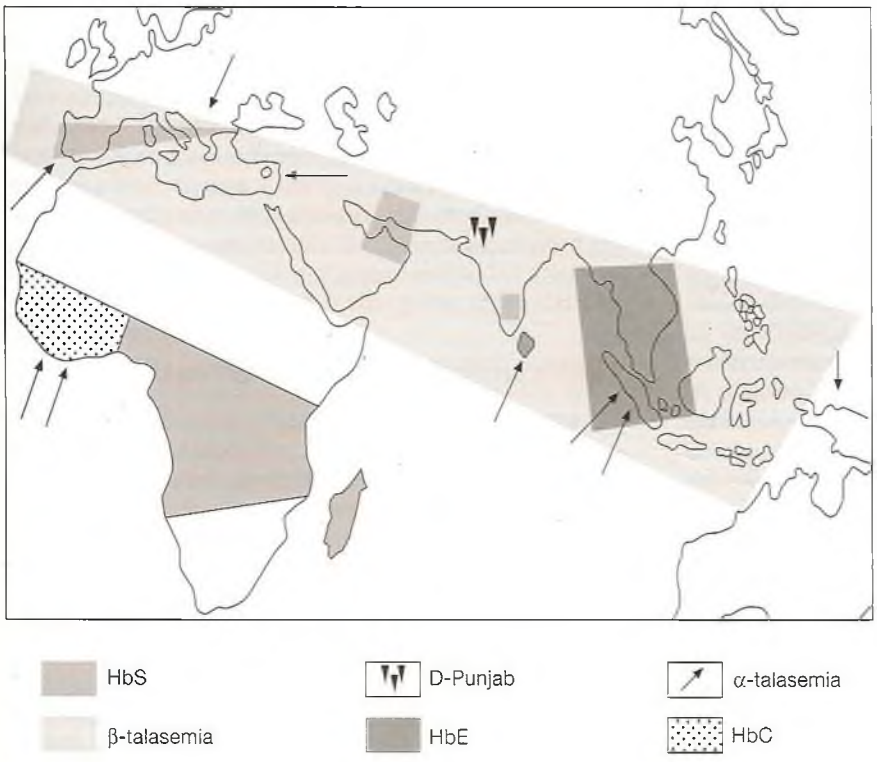


Figura 9.2. Distribución geográfica de las hemoglobinopatías y talasemias más frecuentes.

dina-pirimidina) o heterólogas (cambio purina-pirimidina o pirimidina-purina). Las segundas tienen, en general, una mayor repercusión clínica que las primeras. La mutación homóloga del DNA más frecuente es el cambio adenina-guanina (A → G). Un mismo triplete de bases nitrogenadas puede sufrir diferentes tipos de mutación puntual, lo que da lugar a diferentes tipos de hemoglobinas mutadas (fig. 9.3).

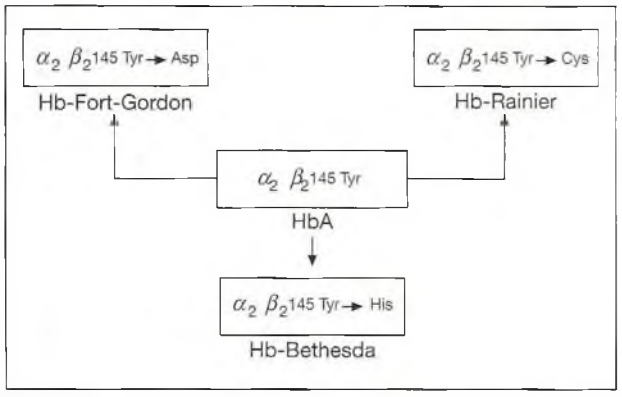


Figura 9.3. Ejemplo de cómo una mutación en un mismo triplete puede dar lugar a tres hemoglobinopatías diferentes.

La gran mayoría de hemoglobinopatías estructurales descritas obedecen a mutaciones de este tipo como, por ejemplo, la HbS (sustitucion Glu-Val en posición 6 de la cadena beta) y la HbC (sustitucion Glu-Lys en posición 6 de la cadena beta). Algunas hemoglobinopatías poseen dos mutaciones diferentes en la misma cadena de globina, como, por ejemplo, la HbC Harlem (β6 Glu → Val 73 Asp Ans), HbArlington Park (β 6Glu → Lys; 95 Lys → Glu), HbJ Singapore (78 Ans → Asp; 79Ala → Gly), HbC Ziguinchor (β6 Glu → Val 73; 58Pro → Arg) y HbS Travis (β6 Glu → Val; 142Val → Ala), entre otras.

Inserciones o deleciones

Consisten en una pérdida o adición de uno o varios nucleótidos en la secuencia del DNA que codifica la síntesis de una cadena de globina. Son ejemplos de deleciones β las hemoglobinas Hb Freiburg (deleción de un aminoácido), Hb Lyon (deleción de dos aminoácidos) y Hb Gun Hill (deleción de cinco aminoácidos). Un ejemplo de adición con duplicación de aminoácidos es la Hb Garay. La consecuencia de este tipo de mutaciones puede ser diversa: *a*) síntesis de cadenas de globina con un número de aminoácidos inferior al normal (cadenas reducidas); *b*) desviación del patrón de lectura (*frameshift mutation*) con síntesis de cadenas de globina cuyos aminoácidos son diferentes a los de la cadena normal (mutación sin sentido), o *c*) anulación del proceso de transcripción, con ausencia de síntesis (síndrome talasémico).

La síntesis de cadenas de globina reducidas o acortadas suele acompañarse de una mayor inestabilidad molecular de la hemoglobina (hemoglobina inestable), con formación de «cuerpos de Heinz» espontáneos. Ejemplo de ello son las hemoglobinopatías Hb Leiden, Hb Niterol y Hb Gun Hill, entre otras.

La desviación del patrón de lectura puede dar lugar a cadenas de globina totalmente diferentes a las normales y, por tanto, no funcionales (síndrome talasémico), pero si se localiza al final de la lectura, la globina resultante puede ser viable, aunque en general presenta una modificación estructural o la adición de aminoácidos. Ejemplos de este tipo de mutaciones son la Hb Wayne, Hb Cranston y la Hb Tak. Otras veces, pese a la importancia de la mutación (presencia de fragmentos de cadena anormal intercalados con fragmentos normales), la hemoglobinopatía resultante puede ser asintomática. Ejemplo de ello es la Hb Wayne, que posee cadenas alfa anormalmente largas y una secuencia de aminoácidos normal hasta la posición 138. Luego aparece una secuencia totalmente nueva de ocho aminoácidos[1,2].

Mutaciones del codón de terminación

Se producen cuando la mutación provoca la alteración (o desaparición) de un codón de terminación (que señala el final de la síntesis de una cadena de globina). Estas mutaciones producen terminaciones tardías de la transcripción del RNAm con síntesis de cadenas de globina que poseen más aminoácidos que las correspondientes cadenas normales (alargamiento de la cadena de globina). Ejemplo de estas hemoglobinopatías son la Hb Constant Spring (CS), que presenta de 28 a 31 aminoácidos de más en la cadena alfa (alfa 141) + (28a31).

Hibridación anómala entre dos cadenas de globina

Obedecen a un entrecruzamiento desigual entre parte del gen delta de un cromosoma y parte del gen beta del cromosoma homólogo durante el proceso de la meiosis (*crossing-over*). La consecuencia es la formación de cadenas de globina híbridas por fusión de dos subunidades de globina. Un ejemplo de este tipo de hemoglobinopatías es la Hb Lepore debida a fusión delta-beta. En la Hb Lepore la porción N-terminal de la cadena delta (50 a 80 aminoácidos) se ha fusionado con la porción C-terminal de la cadena beta (60 a 90 aminoácidos), formándose una cadena híbrida con igual número de aminoácidos (146) que una cadena beta normal. Los individuos portadores de Hb Lepore poseen un cromosoma Lepore sin genes beta o delta, y con un único gen de fusión delta-beta (gen Lepore). Los individuos portadores heterocigotos se comportan como un rasgo talasémico (beta talasemia menor), y los homocigotos, como una talasemia intermedia o mayor moderada.

Clasificación de las hemoglobinopatías

La repercusión de una mutación estructural sobre las propiedades fisicoquímicas y funcionales de la Hb depende del tipo de aminoácido mutado y de su localización en la cadena globínica. Según ello, las hemoglobinopatías estructurales pueden clasificarse en cinco grandes grupos, según el efecto de la mutación:

Hemoglobinopatías con alteración de carga superficial

Estas mutaciones se hallan próximas a la superficie de la molécula de hemoglobina (mutaciones superficiales) y, la mayoría de las veces, van acompañadas de una alteración de su carga eléctrica. Debido a ello, estas hemo-

globinopatías pueden identificarse fácilmente mediante electroforesis. Algunas de ellas producen también un descenso de la solubilidad de la hemoglobina, con formación de estructuras intraeritrocitarias de características paracristalinas. Su manifestación clínica más característica es la anemia hemolítica, y un ejemplo de este tipo de hemoglobinopatías son la HbS y HbC. En la gran mayoría de los casos, este tipo de mutaciones, si bien pueden modificar la carga eléctrica superficial, no provocan ninguna repercusión clínica (asintomáticas), y su hallazgo suele realizarse de forma casual o con motivo de la realización de estudios genéticos. Ejemplo de variantes hemoglobínicas asintomáticas son la HbG Filadelfia o la HbJ París.

Hemoglobinopatías inestables

En general, obedecen a mutaciones internas que desestabilizan la molécula de hemoglobina facilitando su desnaturalización *in vivo* y la formación de precipitados intraeritrocitarios o cuerpos de Heinz. Se conocen con el nombre de hemoglobinas inestables, y su manifestación clínica es una anemia hemolítica crónica, con crisis de agudización después de la ingesta de medicamentos u otras sustancias oxidantes. Hasta la actualidad, se han descrito unas 150 formas moleculares diferentes de hemoglobinopatías inestables.

Hemoglobinopatías con afinidad alterada por el oxígeno

Afectan a regiones de la molécula relacionadas con los cambios conformacionales que acompañan al proceso de fijación reversible del oxígeno molecular. Pueden ser de dos tipos: hemoglobinopatías con aumento de la afinidad por el oxígeno, que dificultan la liberación del oxígeno hacia las células y, por tanto, la oxigenación celular, o hemoglobinopatías con disminución de la afinidad por el oxígeno, que fijan poco oxígeno, pero lo liberan muy rápidamente hacia las células. En el primer caso, existe siempre una respuesta del organismo a la hipoxia de los tejidos, con aumento de la eritropoyesis y de los eritrocitos circulantes (eritrocitosis). Algunos ejemplos de este tipo de hemoglobinopatías son la Hb Cubujuquí, Hb Suresnes o Hb Kansas. En el segundo, sucede el fenómeno inverso, y puede observarse un moderado descenso relativo de la concentración de hemoglobina (anemia). Su frecuencia es muy inferior al primer tipo.

Metahemoglobinemias

En este tipo de hemoglobinopatías, la mutación estabiliza de forma permanente el hierro de los grupos hemo implicados en estado oxidado, impidiendo la fijación reversible del oxígeno molecular. Aunque la hemoglobina mutada (hemoglobinopatía M) sólo tiene inutilizados la mitad de sus grupos hemo para el transporte de oxígeno, carece de función, y su presencia en la sangre va acompañada de metahemoglobinemia y cianosis.

Hemoglobinopatías talasémicas

En este caso, la mutación responsable del cambio estructural produce también una disminución de la síntesis de la cadena de globina por lo que junto a la posible alteración debida a la mutación estructural coexiste un síndrome talasémico que a veces constituye la manifestación clínica principal. Un ejemplo característico de este tipo de hemoglobinopatía es la HbE (tabla 9.1).

HEMOGLOBINOPATÍAS CON ALTERACIÓN DE CARGA SUPERFICIAL

Constituyen las hemoglobinopatías estructurales más frecuentes y las que más fácilmente pueden detectarse en la práctica clínica, ya que para ello sólo se requiere la realización de una electroforesis en diferentes soportes y valores de pH. Mediante esta técnica, estas hemoglobinopatías se diferencian fácilmente de la HbA (normal) por su diferente movilidad (fig. 9.1).

Entre las hemoglobinopatías con alteración de carga superficial destacan como de mayor interés clínico la HbS y HbC. Ambas hemoglobinopatías muestran un posicionamiento característico cuando se emplea soporte de acetato de celulosa y pH alcalino (8,6), y se utilizan para diferenciar otras hemoglobinopatías de este grupo que presentan una movilidad idéntica a la de la HbS (de la que se diferencian por su solubilidad normal) como, por ejemplo, la HbD (HbD Los Angeles, HbD Punjab) y HbG, o algo más rápida (pero menor a la de la HbA normal) como la HbE (hemoglobinopatía talasémica), HbC Harlem, HbO Arab, la HbI y Hb Porto Alegre, entre otras. Empleando este mismo soporte y valor de pH, la HbC, HbE y HbO Arab migran a nivel de la fracción HbA_2 normal, por lo que para diferenciarlas debe emplearse un soporte diferente (citrato de agar) y valor de pH (6,3) u otras técnicas de electroforesis (isoelectroenfoque) o cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Actualmente, existen en el mercado diversos sistemas que facilitan la identificación cualitativa y cuantitativa de diferentes variantes hemoglobínicas en una única fase, de manera simple y rápida (BioRad Variant). Procedimientos más selectivos, aunque también útiles para la identificación inmediata de determinados tipos de hemoglobinopatías estructurales son el inmunoensayo y la biología molecular. Mediante inmunoensayo (kits de HemoCard, Isolab Inc.) pueden identificarse las hemoglobinas HbS, HbC, HbE y HbA, y mediante biología molecular, la HbS, HbD Punjab y HbO Arab.

Hemoglobinopatía S (HbS)

La hemoglobinopatía S (HbS) es la primera enfermedad molecular que fue descrita por Pauling en 1949. Se halla muy extendida por todo el mundo, especialmente entre individuos oriundos de África ecuatorial, aunque se observa también con elevada frecuencia en poblaciones del área mediterránea, Oriente Medio, India y EE.UU. (raza negra). En su forma homocigota (HbSS), es causante de la drepanocitosis o anemia falciforme, y junto con la HbC constituye la hemoglobinopatía más frecuente y también la de mayor impacto sanitario[7].

Incidencia y distribución geográfica

La hemoglobina S debe su denominación al término anglosajón *sickle* que significa «hoz», y que es la forma característica que adoptan los eritrocitos cuando dismi-

TABLA 9.1

Clasificación de las hemoglobinopatías estructurales

Alteración funcional	Lugar de la sustitución	Expresividad clínica	Ejemplo
Ninguna	Superficie	Ninguna	HbG Philadelphia HbJ París
Alteración de solubilidad	Superficie	Hemólisis (homocigotos)	HbS HbC HbO Arab HbD Punjab HbI
Inestabilidad molecular (hemoglobinas inestables)	Interior (residuos apolares)	Hemólisis (heterocigotos)	Hb Koln Hb Zurich Hb Fannin-Lubbock
Alteración de la afinidad por el O_2 (hemoglobinas funcionales)			
– Aumentada	Contacto $\alpha_1\beta_2$ (β C-Terminal)	Eritrocitosis	Hb Chesapeake Hb Barcelona
– Disminuida	Contacto $\alpha_1\beta_2$ (cavidad hemo)	Cianosis	Hb Kansas HB Seattle Hb Hammersmith
Metahemoglobinemia (hemoglobinas M)	Histidina Proximal (F8) Distal (E7)	Cianosis	HbM Boston HbM Iwate HbM Saskatoon*
Fenotipo α-Talasemia	Variable	Hemólisis (doble heterocigoto)	Hb Constant-Spring
Fenotipo β-Talasemia	Variable	Hemólisis (doble heterocigoto)	Hb Lepore

*Hemólisis crónica.

nuye la concentración de oxígeno ambiental. Debido a que los eritrocitos portadores de HbS son resistentes a la infección por *P. falciparum*, el agente causante del paludismo o malaria, la distribución geográfica de la hemoglobinopatía corre paralela a las áreas en las que existe o ha existido paludismo endémico (fig. 9.2). La mayor incidencia de HbS corresponde al África tropical, donde hasta el 45% de la población es portadora de la mutación. En América Latina y el Caribe, uno de cada 100 individuos de raza negra es portador del gen β^S, y en EE.UU. la incidencia de anemia falciforme es de, aproximadamente, 1 de cada 700 nacimientos. En otras áreas también relacionadas con el paludismo endémico, como, por ejemplo, Arabia Saudita, India y sudeste asiático, la incidencia de esta hemoglobinopatía también es muy elevada, pero presenta diferentes haplotipos lo que indica un diferente origen. En España, la incidencia de HbS está creciendo debido al impacto de la inmigración procedente del norte de África y de las regiones subsaharianas. Tal es así que estudios recientes basados en el cribado neonatal de hemoglobinopatías demuestran que uno de cada 400 recién nacidos de padres oriundos del África subsahariana son portadores homocigotos de HbS.

El análisis del DNA en individuos portadores del gen β^S ha demostrado la existencia de diferentes haplotipos, cuyo estudio en la población africana indica la presencia de ciertos haplotipos prevalentes, presentes también en la población negra de EE.UU. y Jamaica. Los haplotipos del gen β^S son patrones polimórficos del DNA que flaquea el gen β, y que se reconocen mediante el uso de la PCR y de endonucleasas de restricción. Hasta la actualidad, se han descrito los siguientes haplotipos β^S: Benín (Ben), Bantú o Centroafricano (CAR), Senegal (Sen), Camerún (Cam), Arabia Saudita o Asiático, y haplotipos menores o infrecuentes. Estas denominaciones guardan relación directa con las regiones geográficas específicas en las cuales cada haplotipo es predominante. Los haplotipos Benín y Senegal son también prevalentes en la población del norte de África y litoral mediterráneo, en especial en Grecia, Italia y parte de la península Ibérica, lo que ha permitido esclarecer la naturaleza y características de las corrientes migratorias que han existido entre diferentes áreas geográficas de África y Europa. Junto con la importancia que puedan tener estos fragmentos polimórficos de DNA como marcadores genéticos, es de mayor interés clínico su posible correlación con la intensidad del síndrome drepanocítico. Así, mientras que en individuos homocigotos para la HbS (HbSS) la coexistencia del haplotipo Senegal o Asiático supone una mayor benignidad del cuadro clínico, la de los haplotipos CAR, Camerún o Benín, especialmente estos dos últimos, se asocia con formas más graves de drepanocitosis.

Fisiopatología

La HbS (β6(A3)Glu → Val) es el resultado de la sustitución de la base timina por la adenina en el codón 6 del

gen β de globina (GAG → TC) con sustitución del glutámico (Glu) por la valina (Val). La localización superficial del aminoácido (residuo) mutado y su diferente carga eléctrica explica el que la HbS pueda distinguirse fácilmente de la HbA normal por su menor movilidad electroforética. Como consecuencia de esta mutación, cuando la hemoglobina se desoxigena (desoxi-Hb) sufre un proceso espontáneo de polimerización por el que adopta la estructura de un gel paracristalino, conocido como cuerpo tactoide[9,10]. La estructura de este polímero se ha deducido a partir de los estudios realizados mediante difracción de rayos X y microscopia electrónica de transmisión. Cada polímero está formado por 14 tetrámeros de desoxi-Hb que se disponen formando haces longitudinales unidos entre sí (fig. 9.4). Esta alteración configura una estructura cilíndrica insoluble y rígida que modifica drásticamente la forma del eritrocito, el cual adopta una morfología que recuerda una hoz (*sickle*) (fig. 9.5). El proceso de polimerización (drepanocitosis) no es instantáneo sino que va precedido de un período de latencia durante el cual las moléculas de desoxi-HbS establecen contacto (formación de pequeños agregados o nucleación) para, finalmente, polimerizar de forma «explosiva» en haces o fibras de cuerpos tactoides insolubles. Este proceso requiere un conjunto de factores facilitadores, entre los que destaca con mucho, el descenso de la presión parcial de oxígeno. Otros factores facilitadores de la drepanocitosis son la concentración de HbS (aumento de la CCMH), la disminución de temperatura, la fuerza iónica del medio (disminución del pH) y la interacción de la HbS con otras hemoglobinas normales (HbA, HbA_2 o HbF) o patológicas (HbC, HbD, HbO Arab, HbJ, principalmente). La interacción de la HbS con otras hemoglobinas explica que la mezcla de cantidades proporcionales de HbS y HbA reduzca la intensidad de polimerización al 50%, o que ésta sea nula si en lugar de HbA existe HbF[11]. Este efecto de la HbF sobre la polimerización es de gran interés, ya que explica la disminución de la expresividad clínica de la hemoglobinopatía S cuando coexiste con otras hemoglobinopatías, tales como β y δβ talasemias, o la persistencia hereditaria de hemoglobina fetal (PHHF). Además, permite investigar opciones terapéuticas basadas en la inducción de síntesis de HbF durante la edad adulta. Aunque el fenómeno de la falciformación es reversible, entre el 5 y el 50% de eritrocitos falciformes no pueden recuperar su forma original, por lo que son inmediatamente eliminados de la circulación por el sistema mononuclear fagocítico (SMF). La proporción entre drepanocitos reversibles (DR) y drepanocitos irreversibles (DI) varía de un paciente a otro, aunque, generalmente, siempre existe un predominio de DR que recuperan su forma normal (disco bicóncavo) en presencia de oxígeno. Los DI no recuperan la forma normal ni en presencia de oxígeno a elevada concentración, y se caracterizan por presentar un gran descenso del VCM (< 70 fL) y aumento de la CCMH (> 370 g/L). La alteración de la CCMH pone de manifiesto un grado extremo de deshidratación celular que se explica por las alteraciones que la polimerización irreversible de la desoxi-HbS ejerce sobre la membrana eritrocitaria. Una de ellas es la alteración de sus propiedades fisicoquímicas. Así, la formación de cuerpos tactoides intraeritrocitarios va acompañada de la formación de sustancias oxidantes (ion superóxido, peróxido de hidrógeno y radicales libres) que alteran la estructura de la membrana (modificación de la composición y distribución de fosfolípidos en la bicapa), y condicionan el aumento de la permea-

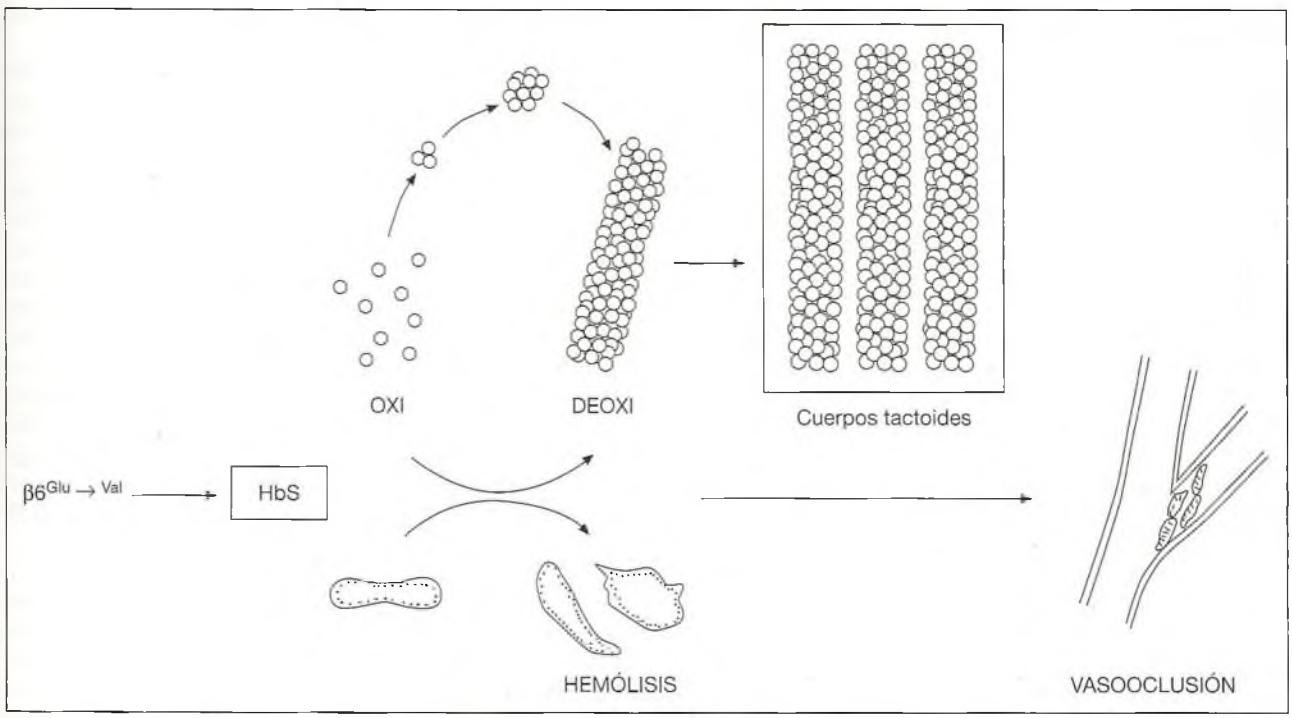


Figura 9.4. Formación de cuerpos tactoides en el proceso de polimerización de la HbS y fenómeno de vasooclusión.

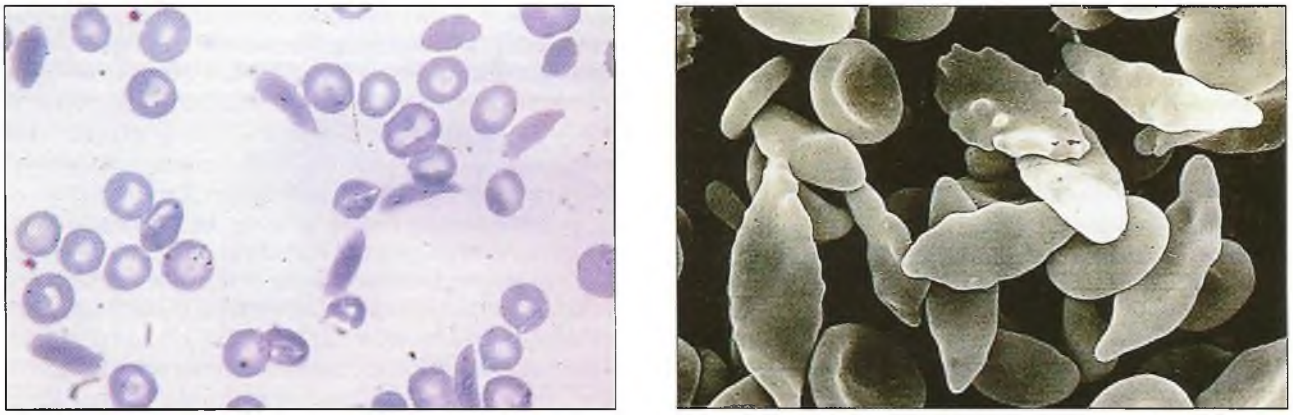


Figura 9.5. Aspecto morfológico de los eritrocitos falciformes (drepanocitos) en sangre. *Izquierda*: imagen de una extensión teñida mediante May-Grünwald-Giemsa, en la que se aprecian numerosos eritrocitos intensamente deformados por la polimerización de la HbS (drepanocitos irreversibles). *Derecha*: imagen de drepanocitos observados mediante microscopio electrónico de barrido (MEB).

bilidad pasiva al potasio y el exceso de calcio intraeritrocitario por el efecto Gardos. Otras alteraciones de la membrana del drepanocito son una elevada tendencia a adherirse al endotelio vascular, y una mayor sensibilidad al efecto de los fagocitos. Esta mayor adherencia de los drepanocitos al endotelio vascular resulta facilitado por sustancias como la trombospondina, resultado de la activación plaquetaria y la fibronectina. La trombospondina es un agente de adhesión especialmente activo, debido a su afinidad por el antígeno CD36 presente en la membrana de los reticulocitos, muy abundantes en la crisis de anemia falciforme. Igualmente sucede con la fibronectina, gracias también al mayor contenido de los reticulocitos en receptores $\alpha_4\beta_1$(VLA 4). Esta mayor adhesión de los drepanocitos y reticulocitos al endotelio vascular constituye uno de los principales factores desencadenantes de las crisis vasooclusivas, características de la drepanocitosis. Ello, a su vez, puede venir facilitado por los granulocitos neutrófilos, también aumentados durante las crisis de falciformación, ya que interactúan con los eritrocitos falciformes y el endotelio vascular, y el estímulo de la actividad macrofágica que favorece la eliminación de los eritrocitos sensibilizados por el SMF[12,13].

La hemólisis de la anemia falciforme es, a la vez, intravascular y extravascular. El carácter intravascular resulta de la lisis de drepanocitos por acción del complemento (mayor sensibilidad al complemento) y la pérdida de deformabilidad por la falciformación (mayor fragilidad al cizallamiento de la circulación sanguínea). El carácter extravascular resulta de la mayor sensibilidad de los drepanocitos al efecto macrofágico de los monocitos.

Las crisis de vasooclusión tienen un origen multifactorial, y en su aparición pueden intervenir factores tan diferentes como la polimerización de la desoxi-HbS, la pérdida de deformabilidad y el aumento de viscosidad sanguínea, la mayor adherencia al endotelio vascular y la activación de la hemostasia, variaciones de la tonicidad vascular, efectos directos de los granulocitos o plaquetas, y también, la presencia de factores facilitadores del entorno ambiental. De todos ellos, no obstante, el que parece más importante es la mayor adherencia de los drepanocitos al endotelio vascular. En este proceso, que puede ser desencadenado por un proceso infeccioso o inflamatorio con activación de los granulocitos y plaquetas, se aumenta la adhesión de los eritrocitos al endotelio vascular y, junto a la disminución de deformabilidad, se facilita la obstrucción y la aparición de crisis vasooclusiva. Cabe señalar que la vasooclusión constituye un factor local que amplifica, por efecto de la hipoxia, el proceso de falciformación y enlentecimiento de la circulación sanguínea local (fig. 9.4).

Manifestaciones clínicas

La hemoglobinopatía S se caracteriza por una elevada heterogeneidad clínica, observándose formas graves y otras prácticamente asintomáticas. Ello obedece a la existencia de moduladores de la expresión clínica, entre los que destacan la concentración de hemoglobina fetal (HbF), el sexo y la coexistencia de otras mutaciones, especialmente genes talasémicos[14].

La forma clínica más frecuente o forma común de hemoglobinopatía S (HbS) es el rasgo falciforme (HbSA), generalmente asintomático, y del que se cree existen en el mundo más de 35 millones de personas afectadas. Los restantes fenotipos presentan una expresividad clínica variable, cuya intensidad depende de la combinación de la HbS consigo misma, bajo forma homocigota (HbSS) o con otras hemoglobinopatías y talasemias bajo forma «doble heterocigota» (síndromes drepanocíticos). Estos fenotipos se corresponden con diferentes genotipos en los que la mutación del gen β^S (alfa$_2$ beta$_2$ 6 Glu-Val) se halla asociada a sí misma (HbSS), a otras hemoglobinopatías como la HbC (HbSC), HbE (HbSE), HbG (HbSG), a genes de β-tal (HbS/β^o-tal, HbS/β-tal, HbS/δβ-tal, y otras), α-tal (HbS/α+tal, HbS/α^o-tal, HbS/α+tal, HbS/^{o}-tal, etc.), o de persistencia hereditaria de la HbF (HbS/PHHbF).

Rasgo falciforme. El rasgo falciforme es el fenotipo de los portadores heterocigotos del gen β^S, y se caracteriza por la ausencia de signos clínicos de la enfermedad. La hemoglobinopatía sólo puede ponerse de manifiesto mediante procedimientos de laboratorio (electroforesis de hemoglobinas). Por ello, cuando en un individuo

portador de rasgo falciforme se aprecian signos clínicos de hemólisis, es prudente revisar de nuevo el diagnóstico, por si dicha manifestación pudiera corresponder a otra causa. El examen morfológico de los eritrocitos no muestra alteración alguna, y la concentración de reticulocitos en sangre, así como los índices eritrocitarios (VCM, HCM y CCMH), son normales. Excepcionalmente, la enfermedad puede manifestarse en situaciones de estrés, tales como disminuciones importantes de la presión parcial de oxígeno atmosférico (altitud, submarinismo o anestesia) o tras la realización de un ejercicio físico intenso. Esta última posibilidad podría explicar también la muerte súbita de deportistas o soldados después de una marcha extenuante. En cualquier caso, las manifestaciones clínicas del rasgo heterocigoto, cuando existen, se refieren más a alteraciones vasooclusivas que a la anemia hemolítica. Así, una de ellas es la afectación del riñón (hipostenuria con hematuria) por microinfarto de la médula renal, o el dolor abdominal agudo por microinfarto esplénico[15].

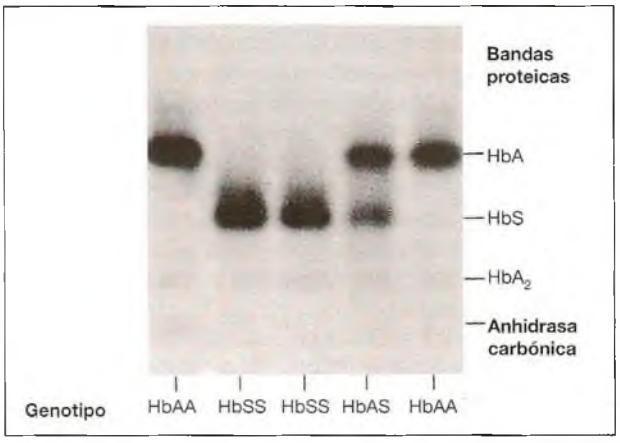


Figura 9.6. Electroforesis de hemoglobinas sobre acetato de celulosa y a pH alcalino de portadores de hemoglobinopatía S. En los indivuos homocigotos (anemia falciforme) se aprecia una única banda de migración lenta situada algo por delante de la fracción HbA_2. Los portadores heterocigotos (rasgo falciforme) muestran, además de la fracción HbA, una banda lenta de HbS situada algo por delante de la HbA_2.

Anemia falciforme o drepanocitosis. Es la expresividad clínica característica de la forma homocigota de HbS (HbSS). Generalmente, la anemia se asocia con un conjunto de manifestaciones extrahematológicas que confieren gravedad al defecto genético, y cuya intensidad varía ampliamente de un paciente a otro (síndromes drepanocíticos). Aunque durante el período neonatal, la anemia falciforme es poco manifiesta debido al efecto protector de la HbF no es hasta pasados los primeros 4 a 6 primeros meses de vida cuando se inicia el cuadro clínico[16]. En el desarrollo de la anemia falciforme pueden considerarse tres fases evolutivas con sintomatología característica: 1) fase estacionaria; 2) fase de expresividad aguda, y 3) fase de expresividad crónica.

1. *Fase estacionaria*. Corresponde, generalmente, a los primeros años de vida (1-4 años), y sus manifestaciones clínicas son las propias de un síndrome hemolítico crónico moderado o intenso (anemia, palidez cutáneo-mucosa, subictericia conjuntival, y retraso del crecimiento óseo y gonadal). En esta fase, es característica una intensa retención eritrocitaria esplénica (hiperesplenismo) con complicaciones vasooclusivas de carácter local y progresivo que conducen a la pérdida de la función esplénica o autoesplenectomía. Ésta puede ponerse fácilmente de manifiesto mediante la visualización de vacuolas (*pits*) eritrocitarias cuando se observa una suspensión de sangre con glutaraldehído mediante microscopia convencional y óptica de Nomarski (fig. 9.6).
2. *Fase de expresividad aguda*. Se inicia a partir de los 4 años de edad, con agravamiento del cuadro anémico (Hb < 80 g/L) y aparición de diversas manifestaciones clínicas de carácter agudo debidas a las crisis vasooclusivas que afectan de forma importante a diversos órganos, aunque muy especialmente al pulmón, al riñón y al tejido óseo (drepanocitosis).
   Las *crisis vasooclusivas* constituyen, de hecho, la manifestación clínica más característica y grave de la anemia falciforme y, muchas veces, el primer síntoma[16,17]. Se trata de ataques, muy dolorosos y pasajeros, que pueden durar días o semanas. Aunque pueden aparecer espontáneamente, lo más frecuente es que sean desencadenados por situaciones tan diversas como hipoxia, fiebre, infecciones, acidosis, deshidratación, hipotermia, cambios climáticos o estacionales y la menstruación. Obedecen a oclusiones de la microvasculatura que pueden afectar distintos territorios del organismo (huesos, tórax y zonas distales de las extremidades), generalmente acompañadas de infecciones, que suelen ser recidivantes. Una de sus manifestaciones más características es el dolor óseo generalizado o limitado a los huesos largos (húmero, fémur, tibias) en sujetos adultos o pequeños, de las extremidades superiores e inferiores (dactilitis) en los niños. La dactilitis da lugar al conocido «síndrome mano-pie», consistente en un dolor agudo y muy intenso con tumefacción subcutánea de la superficie dorsal de manos y pies, acompañado de impotencia funcional. Este síndrome puede confundirse fácilmente con un acceso de fiebre reumática o artritis séptica. Otras regiones que también suelen afectarse en las crisis dolorosas son la condrocostal (dolor torácico), vertebral (dolor dorso-lumbar) y el bazo (cuadro de dolor abdominal agudo). En un gran número de pacientes, la tomografía axial (TC) y la gammagrafía ósea permiten detectar precozmente estas lesiones. Otro territorio también afectado por las crisis vasooclusivas es el mesenterio, dando lugar a infartos de los vasos mesentéricos, que son causa de dolor abdominal muy intenso y de carácter agudo (síndrome mesentérico). Igualmente, la oclusión de vasos cerebrales es causa frecuente de accidentes neurológicos agudos, como hemiplejía, monoplejía y convulsiones[16]. La intensidad y gravedad de estas crisis vasooclusivas puede variar de un paciente a otro, y existen formas relativamente benignas o con escasa expresividad clínica. Estos casos suelen ir acompañados de aumentos importantes de la con-

centración de HbF, que ejerce un efecto protector contra la disminución de la solubilidad. Este efecto beneficioso de la HbF queda demostrado por: *a*) el comportamiento clínico más benigno cuando la concentración de HbF es elevada, como sucede por ejemplo en pacientes árabes homocigotos (HbSS) y en pacientes doble heterocigotos HbS/PHHbF que son prácticamente asintomáticos; *b*) la demostración de una ausencia casi total de HbF en los drepanocitos irreversibles, al contrario de lo que sucede en los drepanocitos reversibles, y *c*) el efecto inhibidor *in vitro* de la HbF sobre la polimerización de la HbSS[18].

Las *infecciones* constituyen la complicación más frecuente de la anemia falciforme, y son responsables de un elevado porcentaje de fallecimientos en estos enfermos. Ello obedece a que no sólo constituyen una complicación del cuadro drepanocítico sino que son, en sí mismas, un factor desencadenante de las crisis. La incidencia de infecciones va disminuyendo progresivamente con la edad, ya que en los niños está muy facilitada por la pérdida de la función inmunitaria del bazo como consecuencia de la autoesplenectomía por microinfartos de repetición (hipoesplenia o asplenia). Como infecciones más frecuentes destacan las debidas a *S. pneumoniae* y *H. influenzae*, aunque también suelen observarse osteomielitis, producida casi siempre por bacterias del género *Salmonella*. La complicación infecciosa más grave del cuadro drepanocítico es la septicemia posmeningitis por *S. pneumoniae* o *H. influenzae*, cuyas manifestaciones clínicas, siempre muy aparentes, suelen asociarse con coagulación intravascular diseminada (CID). Con menor frecuencia, pueden aparecer también infecciones pulmonares de carácter muy grave, con complicaciones tromboembólicas casi siempre producidas por *M. pneumoniae*[19].

La aparición de fiebre, taquipnea e intenso dolor torácico (*síndrome torácico*) constituye la causa más frecuente de hospitalización de los pacientes con anemia falciforme. El síndrome torácico pone de manifiesto una afectación del sistema vascular pulmonar, que casi siempre va acompañada de infección o hipertensión pulmonar, y que suele cursar con una insuficiencia cardiorrespiratoria grave que puede ser causa de muerte[20]. Menos frecuentes que las complicaciones pulmonares son las oclusiones vasculares agudas de otros territorios, entre los que destacan la retina, el sistema nervioso central (SNC) y los cuerpos cavernosos del pene. La trombosis de la arteria central de la retina puede constituir una causa de ceguera (amaurosis) y la de los cuerpos cavernosos del pene, de priapismo que, con el tiempo, se transforma en impotencia por fibrosis de los tejidos esponjosos eréctiles del pene. Ambas complicaciones son en general menos frecuentes que la trombosis cerebral, causa relativamente frecuente de apoplejía.

3. *Fase de expresividad crónica*. Es propia de los pacientes que han logrado sobrevivir la primera infancia, por lo que es característica de la adolescencia y la edad adulta (tabla 9.2). El carácter evolutivo crónico de la anemia falciforme afecta de forma importante al crecimiento y desarrollo corporal, al sistema nervioso central, cardiovascular, pulmonar, hepatobiliar y gastrointestinal[21]. Asimismo, condiciona lesiones graves de la función renal y trastornos visuales que pueden conducir a la ceguera. Finalmente, otra complicación relativamente frecuente de la drepanocitosis en su fase crónica son las úlceras maleolares de evolución tórpida.

TABLA 9.2

Manifestaciones de la fase crónica de la anemia falciforme

- **Úlceras maleolares**
- **Necrosis óseas**
  Enfermedad de Legg-Calvé-Perthes
- **Complicaciones oculares**
  Retinopatía
- **Complicaciones pulmonares**
  Insuficiencia respiratoria
- **Complicaciones cardíacas**
  Insuficiencia cardíaca
- **Complicaciones renales**
  Hipostenuria
- **Complicaciones hepatobiliares**
  Cirrosis difusa nodular
- **Complicaciones debidas a la hiperbilirrubinemia**

Retraso del crecimiento y lesiones osteoarticulares

Una de las manifestaciones más evidentes de la drepanocitosis en su fase crónica es el retraso del crecimiento, puesto de manifiesto por un peso y una altura inferiores a los que corresponden a la edad cronológica. Ello va acompañado de un retraso del desarrollo gonadal, con hipogonadismo y aparición tardía de la pubertad y la menstruación. También la cronificación de los episodios agudos de dolor conduce a una destrucción progresiva de los huesos y articulaciones afectadas, con aparición de osteonecrosis en la epífisis de los huesos largos (cabeza de fémur) y en las vértebras (aplastamiento vertebral), junto con derrames articulares que pueden ir acompañados de dolor intenso, fiebre y leucocitosis[16]. Con menor frecuencia, puede observarse también afectación de la calota craneal con engrosamiento del díploe e imagen radiológica «en cepillo», cuyas características son superponibles a las que se observan en la talasemia mayor. Todas estas alteraciones óseas pueden ponerse fácilmente de manifiesto mediante examen radiológico o gammagrafía ósea.

Sistema nervioso central

Durante la fase crónica, aunque pueden observarse crisis de apoplejía, los trastornos más comunes son la existencia de un cierto retraso psicomotor que explica las dificultades de aprendizaje y el déficit neuropsicológico que suelen presentar estos pacientes durante la edad escolar[22]. Para evitar en lo posible estas complicaciones, resultado del sufrimiento cerebral crónico, es muy recomendable prevenir en lo posible su desarrollo mediante técnicas que determinan la fluidez de la circulación cerebral como, por ejemplo, el Doppler trans-

craneal, o que facilitan la observación precoz de las mismas, como la tomografía computarizada (TC) y la resonancia magnética (RM)

Aparato cardiocirculatorio

La cronicidad de la anemia falciforme suele ir acompañada de cardiomegalia e insuficiencia ventricular izquierda en cuyo desarrollo pueden intervenir varios factores, como infartos múltiples de arteriolas pulmonares y miocárdicas, hemosiderosis miocárdica postransfusional e hipertensión arterial secundaria a insuficiencia renal. En estos casos, la ecocardiografía pone de manifiesto el aumento del tamaño ventricular y la sobrecarga funcional cardíaca impuesta por la anemia crónica y la hipertensión arterial. En ocasiones, aparecen signos clínicos de infarto agudo de miocardio sin afectación coronaria o aterosclerosis[21].

Sistema pulmonar

En la fase crónica de la anemia falciforme es frecuente observar signos de insuficiencia respiratoria obstructiva secundaria a la afectación pulmonar por microinfartos de repetición y sobreinfecciones, que desembocan con el tiempo en una fibrosis pulmonar progresiva[16]. Este trastorno, al favorecer la hipoxia, contribuye a incrementar la frecuencia de las crisis de drepanocitosis y, con ello, la gravedad del cuadro clínico.

Sistema hepatobiliar

En la anemia falciforme, la hepatomegalia constituye un signo clínico prácticamente constante, casi siempre consecuencia del proceso hemolítico crónico (hemosiderosis) y de infecciones víricas postransfusionales. Esta hepatopatía va acompañada de signos biológicos de afectación hepatobiliar (aumento moderado de transaminasas o fosfatasa alcalina del plasma) e histológicos de eritrofagocitosis, con aumento de pigmentos de hemosiderina y un grado variable de fibrosis periportal. Otra consecuencia hepatobiliar de la hemólisis crónica e hipercatabolismo de la hemoglobina es la litiasis biliar, que afecta al 10-15% de pacientes.

Función renal

Las complicaciones renales de la anemia falciforme son relativamente frecuentes y obedecen, mayoritariamente, a la necrosis papilar que aparece como consecuencia de microtrombosis en la región de las asas de Henle. El aumento local del hematocrito, la osmolaridad y la disminución del pH y de la presión parcial de oxígeno (pO_2) hacen de esta región un lugar idóneo para la falciformación y microinfartación de las papilas y pirámides de la pelvis renal. La consecuencia fisiopatológica de este trastorno es la pérdida de la capacidad renal para concentrar y diluir la orina (hipostenuria), y la eventual aparición de hematuria macroscópica. Esta última también puede ser consecuencia de una glomerulonefritis estreptocócica, complicación relativamente frecuente de la HbS[23]. El síndrome nefrótico, aunque posible, no constituye una complicación tan frecuente como la anterior, y suele ir acompañado de hipertensión, hematuria y disminución progresiva de la función renal. Incluso en ausencia de manifestaciones clínicas de afectación renal, un elevado número de pacientes con anemia falciforme presentan proteinuria y un moderado aumento de la creatinina plasmática, lo que pone de manifiesto la frecuencia de la afectación renal crónica en esta enfermedad. Aunque la insuficiencia renal aparece en sólo el 4% de pacientes con anemia falciforme, constituye una importante causa de muerte en la edad adulta. La hemodiálisis y la administración de eritropoyetina recombinante (HrEpo) en caso de anemia intensa, constituyen, en este caso, medidas terapéuticas de elección.

Trastornos oculares

Dentro de la extensa y bien conocida patología que se produce en la drepanocitosis, existen los cambios patológicos que aparecen a nivel ocular, con trastornos circulatorios en la conjuntiva y cambios retinianos consistentes en el emblanquecimiento y condensación de vítreo basal, cambios en los vasos periféricos, lesiones coriorretinales pigmentadas en la periferia de la retina (iridiscentes, de color cobre), depósitos brillantes, retinitis proliferativa, hemorragias retinianas y desprendimiento de retina. Los cambios en la retina central incluyen tortuosidad y dilatación de la red capilar, con formación de microaneurismas y cicatrices negras en forma de disco, con pigmentación espiculada y estrellada (signo de «llamas solares negras»), que se asocian con obliteración arterial y, en menor grado, venosa.

Las complicaciones oculares obedecen a oclusiones de los pequeños vasos de la retina que ocasionan sufusiones hemorrágicas y signos proliferativos característicos de neoformación vascular compensadora. Debido a ello, se produce una retinopatía proliferativa cuyas características y evolución son muy similares a las de la retinopatía diabética: alteraciones de la visión, con aparición de fotopsias, moscas volantes y adherencias coriorretinianas que, con el tiempo, pueden facilitar un desprendimiento de retina. Otra complicación relativamente frecuente de la anemia falciforme es el hifema o sufusión hemorrágica en la cámara anterior del globo ocular.

Úlceras maleolares

Este trastorno se ha descrito siempre como una complicación característica de la anemia falciforme, ya que se observa en más del 50% de pacientes. Constituye una complicación menos grave en comparación con las mencionadas anteriormente, y su aparición resulta favorecida por traumatismos y ciertas infecciones (linfangitis y osteomielitis). Aunque no son muy dolorosas, las úlceras presentan un carácter tórpido que dificulta su resolución definitiva.

Impotencia

Consecuencia de la fibrosis de los cuerpos cavernosos del pene como consecuencia de la trombosis crónica, con priapismo.

Síndromes drepanocíticos moderados

Son formas de anemia falciforme con un cuadro clínico menos llamativo que el de la drepanocitosis clásica y que, casi siempre, obedecen a genotipos mixtos, es decir, dobles heterocigotos HbS con otras hemoglobinopatías o talasemias. Algunos pacientes portadores ho-

mocigotos de HbS (HbSS) sin otra alteración genética demostrable también pueden presentar formas benignas de drepanocitosis. En este caso, el defecto suele diagnosticarse pasada la primera infancia, y los pacientes con una concentración de hemoglobina que oscila entre 95 y 125 g/L sólo sufren ocasionales crisis de hemólisis acompañadas de dolor musculoesquelético moderado, que no les impide desarrollar una vida prácticamente normal. Estas formas de anemia falciforme se observan especialmente en individuos de origen árabe con concentración de HbF elevada (alrededor del 20%) y relación δ^G/δ^A similar a la de la HbF normal. Igualmente, los portadores heterocigotos de HbS y persistencia hereditaria de Hb fetal (HbS/PHHbF) con un 20% aproximadamente de HbF, suelen carecer de manifestaciones clínicas, a pesar de que el 80% de su hemoglobina es HbS. Ello se ha atribuido al carácter uniforme de la distribución de la HbF eritrocitaria en estos pacientes, a diferencia del carácter irregular que se observa en la anemia falciforme clásica. También, la coexistencia de diferentes haplotipos del gen β^S se ha asociado con síndromes drepanocíticos con expresividad clínica reducida o más benigna.

Otra causa de variabilidad en la expresión clínica de la enfermedad es la asociación HbS y talasemia. Debido a que en ciertos países la frecuencia de portadores HbS y talasémicos (β-tal) es elevada, el hallazgo de fenotipos doble heterocigotos HbS/β-tal no resulta ocasional. Entre ellos, los más frecuentes son los fenotipos HbS/β^o-tal, HbS/β^+-tal y HbS/$\delta\beta$-tal. La expresividad clínica de estas asociaciones es variable, al igual que su expresividad biológica y, en general, cursan con microcitosis e hipocromía (disminución de la CCMH) con concentraciones variables de HbA. Menos frecuente es la coexistencia en un mismo individuo del gen β^S con el de α-talasemia (α^+-tal o α^0-tal), y se caracteriza por una anemia más leve, moderado aumento de HbA_2 y valores de VCM y CCMH disminuidos. En estos pacientes, la concentración de HbF es elevada, y la disminución de la CCMH favorece la solubilidad de la HbS (menor proporción de drepanocitos irreversibles) y disminuye su tendencia a la falciformación. El resultado es un comportamiento clínico más benigno y, por tanto, un mejor pronóstico. No obstante, al existir una mayor concentración de hemoglobina (hematocrito más elevado) existe un mayor riesgo de fenómenos trombóticos y, con ello, de crisis vasooclusivas[13]. El 50% de estos pacientes, aproximadamente, muestran también una esplenomegalia palpable.

Diagnóstico de la anemia falciforme

El diagnóstico de la drepanocitosis, independientemente de sus diferentes formas clínicas, requiere la realización de las siguientes pruebas de laboratorio: *a*) hemograma con recuento de reticulocitos; *b*) examen de la morfología eritrocitaria; *c*) pruebas de solubilidad o falciformación; *d*) electroforesis de hemoglobinas, y *e*) análisis del gen HbS mediante PCR.

Hemograma. En la anemia falciforme, el hemograma se caracteriza por anemia, generalmente intensa (Hb entre 70 y 90 g/L), moderada leucocitosis neutrofílica (15-30 × 10^9/L) y trombocitosis. La anemia es normocítica (VCM entre 83 y 98 fL) o moderadamente macrocítica (VCM alrededor de 100 fL) debido a la intensa reticulocitosis (> 150 × 10^9/L). La CCMH suele hallarse dentro de los límites normales o algo disminuida (< 320 g/L), también debido al efecto de la reticulocitosis. El VCM tiene especial importancia en el estudio inicial de la anemia falciforme. En principio, su valor debe ser normal, aunque no es frecuente que muestre cierto aumento debido a la reticulocitosis. Por ello, el hallazgo de valores de VCM disminuidos (VCM < 83 fL), especialmente en presencia de reticulocitosis intensas, debe hacer sospechar la existencia de una asociación HbS/β-talasemia. En este caso, debe realizarse, siempre que sea posible, un estudio familiar y la cuantificación precisa de la concentración de HbA_2 y HbF. Otras causas que pueden disminuir el VCM en la anemia drepanocítica son la ferropenia y la asociación de la HbS y α^o-talasemia. El déficit de hierro puede obedecer tanto a la malnutrición como a la pérdida urinaria secundaria a las crisis hemolíticas periódicas, y su diagnóstico requiere un estudio completo del metabolismo del hierro (ferritina, sideremia y capacidad de saturación de la transferrina). La asociación de HbSS (homocigota) con α-talasemia puede dar varios cuadros clínicos de intensidad variable, acompañados de un diferente comportamiento electroforético.

Observación de la morfología eritrocitaria. Es una prueba diagnóstica fundamental ya que permite establecer el diagnóstico al apreciar una proporción variable, pero siempre superior al 10%, de eritrocitos intensamente deformados (drepanocitos irreversibles), alargados y algo curvados, que poseen una característica forma de hoz (*sickle-cell*) o de semiluna (fig. 9.5). Esta alteración morfológica, debida a la polimerización de la HbS, va acompañada de una pérdida de deformabilidad eritrocitaria que, a veces, puede falsear los resultados del recuento electrónico y dar valores excesivamente elevados de VCM.

Pruebas de solubilidad y falciformación. Constituyen procedimientos muy simples para complementar la información aportada por el hemograma y el examen morfológico de los eritrocitos.

La prueba de la solubilidad consiste en observar la precipitación de la HbS cuando el hemolizado se incuba en presencia de ditionito sódico, que actúa como agente reductor[16,17].

La prueba de la falciformación consiste en inducir la formación de eritrocitos falciformes (drepanocitosis) *in vitro* exponiendo la sangre total a un estado de desoxigenación. Para ello se coloca una suspensión de eritrocitos sobre un portaobjetos, se añade un agente desoxigenante (metabisulfito o ditionito sódico al 2%) y se cubre con un cubreobjetos sellando las esquinas para evitar, en lo posible, el contacto de la sangre con el oxígeno ambiental. Pasados unos minutos, se observa, mediante un microscopio, la posible inducción de eritrocitos falciformes[18].

Electroforesis de hemoglobinas

La electroforesis de hemoglobinas a pH alcalino es el procedimiento diagnóstico que, por su simplicidad, pre-

cisión y bajo coste, ofrece un mayor rendimiento. Empleando esta técnica, los individuos homocigotos (HbSS) muestran una fracción de hemoglobina mayoritaria que migra algo por detrás de la HbF, y ausencia total de HbA. En caso de portadores heterocigotos (HbAS), se aprecian dos fracciones hemoglobínicas de intensidad similar y un moderado aumento de HbF, y aumento de A_2 (fig. 9.6).

El empleo de isoelectrofocalización y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) puede ser útil para la realización de estudios familiares extensos o el escrutinio de la hemoglobinopatía.

Lamentablemente, en los síndromes drepanocíticos el patrón electroforético no es tan simple ni tan sencillo de interpretar como en los casos de HbSS y HbAS. Tal sucede cuando la HbS coexiste con otras hemoglobinopatías estructurales o talasemias. La asociación HbSC no suele crear problemas, ya que la electroforesis permite diferenciar claramente las dos fracciones de HbS y HbC. Por el contrario, en caso de HbS/β-talasemia pueden surgir ciertas dificultades. A continuación, se exponen algunas de las posibilidades más frecuentes y su interpretación:

1. En caso de HbS/β^+-talasemia, existe un claro predominio de la HbS (70-90%) sobre la HbA normal (10 a 30%), mientras que en la drepanocitosis heterocigota (HbAS), sin talasemia, se aprecia un moderado predominio de la fracción HbA normal (50-60%) sobre la HbS (30-40%). Además, en ambos casos existe también un aumento de HbA_2, más acusado en la HbS/β^+ talasemia (HbA_2 > 4,5%). El elemento diferenciador es el VCM que se halla disminuido en la HbS/β^+-talasemia y normal en la HbAS. No obstante, la consideración de la HbA_2 y el VCM como elementos para el diagnóstico diferencial carecen de valor en recién nacidos (RN), donde éste deberá realizarse según los porcentajes relativos de HbA y HbS.
2. En caso de HbS/β^0-talasemia, el patrón electroforético es superponible al de la drepanocitosis homocigota (HbSS), con la salvedad del VCM, que sólo disminuye en la HbS/β^0-talasemia. Por ello, en ambas situaciones, especialmente en RN donde la consideración del VCM es más difícil, el diagnóstico diferencial exige el empleo de biología molecular. Con todo, es importante no olvidar que una transfusión reciente puede falsear por completo el patrón electroforético, que puede confundirse con el de una drepanocitosis heterocigota debido al efecto de los eritrocitos normales infundidos.
3. En caso de aumento de la HbF las posibilidades son diversas, porque muchos síndromes drepanocíticos cursan con HbF elevada:
   a) Anemia drepanocítica ($\beta^S\beta^S$).
   b) HbS y β^o-tal (β^S/β^o).
   c) HbS y δ-β-tal ($\beta^S/\delta\beta^o$).
   d) HbS y PHHF (β^S/PHHF).
   e) Anemia drepanocítica y α-tal (-α/-α; β^s/β^s).
   f) Anemia drepanocítica y PHHF heterocelular (β^S/β^S; PHHF).
   g) Dobles heterocigotos HbS con otras hemoglobinopatías estructurales:
      - De la cadena β (p. ej., HbC, HbG-Filadelfia).
      - De la cadena α (p. ej., Hb Korle-Bu).

   Los dobles heterocigotos HbS y HbG-Filadelfia y Hb Korle-Bu son dos ejemplos que ilustran la dificultad que, a veces, entraña la interpretación de los patrones electroforéticos en estos casos. Así, ambos pacientes, de raza negra, fueron diagnosticados durante muchos años como portadores de «drepanocitosis atípica». Por ello siempre que surjan dificultades, la electroforesis de hemoglobinas debe completarse con un estudio familiar, lo más amplio posible, y un conjunto de pruebas que deberán realizarse si el caso en concreto lo hace aconsejable[40]:
   a) Electroforesis de hemoglobinas a diferentes valores de pH.
   b) Cuantificación de las fracciones HbA, HbF y otras.
   c) Prueba de Kleihauer (tinción de la HbF en porta).
   d) Prueba de la síntesis de cadenas de globina.
   e) Análisis del DNA mediante PCR:
      - HbS (*).
      - β-talasemias (**).
      - α-talasemias.
   f) Caracterización fenotípica de los haplotipos de HbS.

(*) La identificación de la mutación causante de la hemoglobina S (βs CD6 GAG > GTG) debe realizarse mediante PCR-ARMS (*amplification refractory mutation system*) que es una técnica basada en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y que permite diferenciar entre carácter homocigoto y heterocigoto de la HbS. En este último caso permite también detectar la posible coexistencia de otras hemoglobinopatías o genes talasémicos asociados al gen HbS (dobles heterocigotos y HbS/betatalasemia).

(**) El análisis molecular de la talasemia beta se efectúa amplificando por PCR una porción del gen en estudio con empleo de cebadores específicos, seguida de la digestión con enzimas de restricción que permitan detectar la presencia de mutaciones. En la práctica clínica se realiza el escrutinio de las mutaciones más frecuentes en nuestro medio geográfico: IVS-I-1(G G62279A), IVS-I-6(T62284C), CD6(-A), CD37(G62429A), CD-39(C62434T) e IVS-I-110 (G62388A), causantes del 85% de las betatalasemias en España[40].

Pronóstico y prevención

El pronóstico de la anemia falciforme depende, en gran parte, de factores moduladores de la expresión clínica, entre los que destacan la concentración de HbF y la coexistencia de mutaciones genéticas para otras hemoglobinopatías o talasemias. El más importante es, con todo, la concentración de HbF, ya que al no participar en el proceso de polimerización, cuando su concentración es elevada disminuye la tendencia a la falciformación. La concentración de HbF depende, a su vez, de otros factores, en gran parte constitucionales, como la edad, el sexo, el número de genes α, los haplotipos del gen β y la actividad del locus FCP (*F-cell production*). El locus FCP es un gen que regula la producción de HbF en los pacientes con anemia falciforme[24] y se halla situado en el cromosoma sexual X (Xp22,2). Debido a ello, la producción de HbF es superior en las mujeres, independientemente de que sean o no portadoras del gen β^S. En este último caso,

se ha observado que las mujeres con anemia falciforme y portadoras del haplotipo «Senegal», poseen mayor HbF que los varones con idéntico haplotipo. Igualmente, la existencia de polimorfismos del gen β determina diferencias de comportamiento clínico entre razas africanas, mediterráneas y asiáticas. En las poblaciones africanas y en las del litoral mediterráneo, el haplotipo predominante es el tipo «Benín» y en las asiáticas, el tipo «Senegal». La asociación de este último con una mayor síntesis de HbF explica la menor predisposición a padecer crisis vasooclusivas y, por tanto, su comportamiento clínico más benigno[25].

La incorporación del diagnóstico precoz mediante programas de cribado neonatal, la educación sanitaria y las posibilidades terapéuticas han significado, a lo largo de los últimos años, una sensible mejora en el pronóstico y calidad de vida de los pacientes afectados de drepanocitosis homocigota.

Tratamiento

La anemia falciforme debe ser tratada siempre teniendo en cuenta su carácter crónico y la frecuencia de las complicaciones. Una de las mejores opciones para estos enfermos es prevenir, en lo posible, la aparición de crisis agudas vasooclusivas, procurando evitar en lo posible todas aquellas situaciones que favorezcan su aparición, como por ejemplo, infecciones, acidosis, hipoxemia y exposición al frío, como las más importantes. La Sociedad Española de Hematología Pediátrica (SEHP) ha diseñado un protocolo para el diagnóstico y tratamiento de la anemia de células falciformes[26], y el Sickle Cell Information Center de Georgia, en EE.UU. (www.scinfo.org) propone seguir las siguientes pautas generales de tratamiento:

1. Tomar ácido fólico (folato) diariamente para garantizar el funcionamiento de la eritropoyesis.
2. Administrar penicilina con carácter preventivo hasta los seis años de edad para evitar, en lo posible, la aparición de infecciones graves.
3. Mantener un buen estado de hidratación mediante la ingesta de 8 a 10 vasos de agua al día (adultos).
4. Evitar en lo posible los ambientes excesivamente fríos o calurosos.
5. Evitar el ejercicio intenso y los estados de estrés.
6. Procurar un máximo reposo.
7. Realizar controles médicos periódicos.

Tratamiento de las crisis vasooclusivas

El tratamiento básico de la anemia falciforme es el de las crisis dolorosas, y consiste principalmente en el empleo de medicamentos y fluidos para reducir el dolor y prevenir las complicaciones. Para ello, lo más prudente es la hospitalización del paciente al objeto de mejorar su estado de oxigenación, evitar la deshidratación y administrar antibióticos y analgésicos[27,28]. Como analgésicos pueden usarse, en caso de dolores muy intensos, los opiáceos (morfina, meperidina o hidromorfina) por vía parenteral en dosis terapéuticas a intervalos fijos de 3 horas, u otros fármacos, como la hidroxizina, difenhidramina, prometazina, asociados con antiinflamatorios no esteroideos (AINE). Cuando mejora el dolor, puede ir reduciéndose la administración parenteral de analgésicos y optar por el empleo de analgésicos por vía oral. Una vez de alta, es recomendable que estos pacientes dispongan siempre de tabletas de acetaminofeno con codeína, por si aparece un nuevo episodio de dolor agudo. En caso de deshidratación, o para prevenirla, debe administrarse, por vía parenteral o digestiva hidratación en cantidad de 2-4 L/m^2 cada 24 horas.

Tratamiento de las infecciones

La elevada frecuencia de infecciones neumocócicas en la anemia falciforme, especialmente en niños de corta edad, obliga a establecer pautas de inmunización preventiva (vacunación) frente a *S. pneumoniae* y *H. influenzae*, o administración profiláctica de penicilina por vía parenteral cada 3 semanas[26].

En general, es recomendable que los niños entre 2 y 5 años de edad con anemia falciforme sean vacunados frente al neumococo (PCV-7) y tomen penicilina dos veces al día, comenzando a los 2 meses de edad y continuando hasta, por lo menos, los 5 años de edad. Recientemente, sin embargo, se ha comunicado la existencia de varias formas nuevas de neumococo que son resistentes a la penicilina[13].

Transfusiones

Los pacientes con anemia falciforme presentan una buena adaptación a la anemia, incluso para valores tan bajos como 50 g/L de hemoglobina en sangre, por lo que, siempre que sea posible, debe evitarse la transfusión, limitándola a aquellos casos en los que sea estrictamente imprescindible. Las transfusiones no son inocuas, ya que pueden ser, en sí mismas, causa de complicaciones graves, como inmunización alogénica, hemosiderosis y eventual vía para la transmisión de enfermedades. En general, consisten en la administración de concentrados eritrocitarios hasta conseguir valores de concentración de hemoglobina en sangre de entre 100 a 120 g/L. Es muy importante no superar este límite, ya que podrían aparecer complicaciones por hiperviscosidad sanguínea y aumento brusco de la volemia.

La transfusión de sangre también puede estar indicada en la prevención del riesgo de accidentes vasculares cerebrales en niños que deben someterse a intervenciones quirúrgicas por complicaciones graves de la drepanocitosis y, con ello, al peligro de la anestesia general[26,29]. En estos casos, es importante un control del flujo sanguíneo mediante ultrasonografía Doppler transcraneal, y conseguir valores de hematocrito cercanos a 0,30 L/L después de la transfusión. Otra posibilidad es reducir, previamente a la intervención, la concentración de HbS hasta valores inferiores al 30% mediante una exsanguinotransfusión.

Hidroxiurea

Es un hecho bien demostrado que una concentración elevada de HbF reduce la tendencia de la HbS a formar polímeros y, por tanto, la falciformación. Por ello, una de las opciones terapéuticas más eficaces es el empleo de hidroxiurea (HU), un agente alquilante (inhibidor de la fase S del ciclo celular) muy empleado en el tratamiento de los síndromes mieloproliferativos crónicos y

que ha demostrado ser un eficaz inductor de la síntesis de HbF. Ensayos clínicos a doble ciego han demostrado que el tratamiento con HU de pacientes con anemia falciforme reduce significativamente la frecuencia de las crisis vasooclusivas, el síndrome agudo de dolor torácico, el requerimiento transfusional y, por ende, la frecuencia de hospitalizaciones[30]. Desde el punto de vista hematológico, la administración de HU disminuye el número de eritrocitos falciformes circulantes y la intensidad de la hemólisis, y aumenta la concentración de HbF. Ello redunda en un aumento de la concentración de hemoglobina (disminución de la anemia) y en un descenso del número de neutrófilos y monocitos (disminución del riesgo trombótico). La HU disminuye también la adherencia de los eritrocitos falciformes al endotelio, a la vez que disminuye la velocidad de polimerización. Este conjunto de acciones beneficiosas se traducen en una evidente mejora del estado clínico del paciente. Se ha observado que los pacientes con valores más elevados de granulocitos y reticulocitos son los que responden mejor a la administración de HU ya que son en los que con mayor rapidez se aprecia un aumento de la HbF. Esto pone de manifiesto una mayor capacidad de respuesta medular al estímulo del fármaco, frente a otros casos en los que una respuesta clínica escasa va acompañada de aumentos mucho más discretos de HbF. Estudios similares se han realizado también en niños, observándose una acción igualmente eficaz de la HU con un índice mínimo de toxicidad a corto plazo[30].

Con todo, y a pesar de su efecto beneficioso en el tratamiento de la anemia falciforme, la HU debe administrarse con precaución, ya que se trata de un agente alquilante y potencialmente mutagénico, aunque sus efectos a largo plazo en pacientes con hemoglobinopatía S están aún por ver, especialmente cuando su administración se inicia a edades tempranas. La realidad es que, hasta el momento, no se han descrito aún roturas cromosómicas, recombinaciones genéticas o mutaciones de los genes p53, N-ras, K-ras, en pacientes con anemia falciforme y tratados con HU. Esto contrasta con el hecho de que el tratamiento con HU de pacientes con policitemia vera (PV) muestra una frecuencia de transformación leucémica que oscila entre el 5 y el 10%. Por ello, y a pesar de su indudable efecto beneficioso, la administración de HU sólo está indicada en adolescentes o adultos con episodios de dolor muy frecuentes, historia de síndrome torácico agudo con complicaciones vasooclusivas graves o con anemia muy intensa[13]. Asimismo, en caso de optar por el tratamiento con HU debe realizarse un control periódico de sus efectos mediante la práctica de hemogramas (valorando de manera especial el VCM), de la HbF y otras magnitudes bioquímicas del plasma. Nunca debe aplicarse tratamiento con HU a mujeres embarazadas ni a pacientes sometidos a transfusiones, en cuyo caso, éstas deben ser interrumpidas.

La dosis inicial es de 500 mg/día en adultos, y de 10 a 15 mg/kg/día en niños con menos de 30 kg de peso. La toma debe realizarse por la mañana, durante 6-8 semanas, y practicar un hemograma cada 2 semanas para controlar la concentración de granulocitos ($> 2 \times 10^9$/L) y plaquetas ($> 80 \times 10^9$/L). A partir de las 6-8 semanas, la dosis puede aumentarse a razón de 1 g/día hasta un máximo de 1.500-2.000 mg/día, siempre que se aprecie un hemograma estable. Cuando se observe intolerancia, la dosis debe reducirse a menos de 10 mg/kg/día. El tratamiento mediante HU va acompañado de un aumento del VCM, cuyo valor guarda relación directa con el de la HbF, de manera que es un índice fiable del mismo. Si después de unos días de tratamiento no se observa aumento del VCM, es que no existe una buena respuesta o que el tratamiento no se está realizando correctamente. Hasta que se obtenga la dosis óptima, el hemograma debe hacerse cada 2 semanas, y luego se debe hacer mensualmente. En el 10-25% de los pacientes adultos existe una falta de respuesta a la administración de HU, debido a otros trastornos concomitantes de la médula ósea, a factores genéticos o a variaciones en el metabolismo del medicamento. Debido a esta variabilidad en la respuesta a la HU entre diferentes pacientes, pueden ser necesarios muchos meses de tratamiento hasta encontrar la dosis óptima de respuesta[24]. En algunos pacientes, la administración simultánea de eritropoyetina (Hr-Epo) parece potenciar el efecto beneficioso de la HU sobre la anemia.

Trasplante de médula ósea

El trasplante de médula ósea (TMO) fue utilizado por vez primera en Europa hace ya bastantes años como única alternativa terapéutica en pacientes con drepanocitosis de muy mal pronostico (1%, aproximadamente, de los pacientes con anemia falciforme). Aunque la respuesta observada ha sido muy aceptable (supervivencia libre de complicaciones en el 80% de casos), el potencial riesgo de mortalidad y el elevado coste económico hacen que este tratamiento se reserve únicamente para aquellos pacientes menores de 16 años, con donante HLA-compatible y determinados criterios de gravedad (accidentes vasculares cerebrales, dolor agudo torácico recurrente o dolor refractario al tratamiento) y que no presenten signos de mal pronóstico (disminución de la HbF y coexistencia de talasemia)[31,32]. Hasta la actualidad, más de 100 pacientes con anemia falciforme han sido sometidos a TMO, con una supervivencia a los 5 años libre de complicaciones del 70-85% y con enfermedad del donante contra el receptor (GVHD) en el 15% restante. Lamentablemente, el seguimiento de los pacientes que han sobrevivido es aún excesivamente corto, y la toxicidad del TMO a largo plazo aún se desconoce. Probablemente, otras posibilidades más beneficiosas y menos peligrosas son las que propugnan el empleo de células madre procedentes de sangre del cordón umbilical[33,34].

Tratamientos experimentales

Tratamiento con ácidos grasos de cadena corta. La administración de metabolitos de los ácidos grasos como, por ejemplo, el ácido α-aminobutírico (butirato) y el fenilbutirato sódico constituyen otra opción para incrementar el número de eritrocitos con HbF (células F). Aunque los primeros ensayos clínicos mostraron resultados alentadores (aumento en la concentración de hemoglobina y HbF), estudios posteriores no llegaron a confirmarlos, por lo que en realidad aún se desconoce si

la respuesta es estable o clínicamente beneficiosa[35,36]. También se ha intentado la administración de butirato de arginina a elevada concentración dos veces al mes con respuestas favorables (aumento significativo y estable de la HbF), aunque se requieren estudios sobre un número más elevado de pacientes para asegurar de manera definitiva su eficacia en el tratamiento de la anemia falciforme.

Deshidratación de los eritrocitos. Diversos estudios sugieren que favoreciendo la hidratación de los eritrocitos con elevado contenido en HbS puede reducirse significativamente su tendencia a la polimerización. Con esta idea se han ensayado diversos fármacos que bloquean los canales de transporte catiónico de la membrana eritrocitaria, revertiendo su contenido catiónico y acuoso hacia valores próximos a la normalidad. Uno de ellos es el clotrimazol, un agente antimicótico, que disminuye el grado de deshidratación de los eritrocitos *in vitro* (ratas transgénicas con enfermedad SS) pero también en pacientes con anemia falciforme[13]. Después de observar que en las ratas transgénicas la combinación del clotrimazol con hidroxiurea y eritropoyetina recombinante (Hr-Epo) ejercía cierto efecto favorable, se han realizado algunos estudios piloto en humanos pero aún sin resultados concluyentes. Las sales de magnesio, con acción similar a la del clotrimoxazol, parecen tener un efecto beneficioso e, igualmente, bajas concentraciones de óxido nítrico, al aumentar la afinidad de la HbS por el oxígeno, disminuirían su tendencia a polimerizar. Finalmente, investigaciones más recientes abogan por el empleo de la terapia génica para inactivar el HbS^{β} o su RNAm, aumentar la expresión del gen que controla la síntesis de HbF o introducir genes cuyos productos inhiban la polimerización de la HbS.

Hemoglobina C (HbC)

La HbC es en frecuencia la segunda hemoglobinopatía después de la HbS. Obedece a una mutación (G → A) en el codón 6 del gen β globina que causa la sustitución del ácido glutámico por lisina (β6 Glu → Lys). Se trata de una hemoglobinopatía prácticamente exclusiva de la raza negra, que se localiza preferentemente en la región centrooccidental del continente africano con alta frecuencia (20-28% de la población) en el norte de Ghana y Alto Volta, y menor (alrededor del 4%) en el sur de Ghana y en la región más occidental de Nigeria[37]. Su presencia en individuos de raza blanca es infrecuente, y debido a su falta de expresividad clínica, suele pasar desapercibida. Se han descrito focos de HbC en determinadas áreas geográficas del litoral mediterráneo (Italia, Grecia y España, principalmente). En España, se halla localizada en áreas relativamente restringidas de Andalucía y Extremadura[38].

Al igual que la HbS, va acompañada de una alteración de la carga eléctrica superficial del eritrocito y de una disminución de la solubilidad, por lo que la hemoglobina tiende a cristalizarse. Mediante electroforesis convencional a pH alcalino, la HbC al tener más carga positiva que la HbA migra con mayor lentitud, y su movilidad es superponible a la de la fracción HbA_2, y las hemoglobinopatías HbE y HbO, entre otras (fig. 9.1). Para diferenciar la HbC de las HbE y HbO puede emplearse electroforesis en gel de agar a pH ácido (6,4) y de la HbA_2 mediante cromatografía de alta resolución (HPLC) en CM-celulosa (CM-52) o en CM-Sephadex (C-50)[39].

Las moléculas de HbC se encuentran en un estado precristalino debido a su elevada concentración intraeritrocitaria (CCMH > 400 g/L), lo que favorece su cristalización. Así, los eritrocitos de individuos homocigotos (HbCC) forman cristales intracelulares cuando se suspenden en un medio hipertónico, ya que en estas condiciones la CCMH puede mostrar valores cercanos a 48 g/L, que son críticos para el inicio de la cristalización. Esta cristalización puede resultar favorecida por la hipoxia. La elevada densidad hemoglobínica del interior del eritrocito explica una importante disminución de la deformabilidad, que puede ponerse fácilmente de manifiesto mediante ektacitometría. Debido a esta rigidez, estos eritrocitos difícilmente atraviesan la microcirculación, y tienen una supervivencia disminuida (anemia hemolítica).

Manifestaciones clínicas

HbC homocigota (HbCC). Los pacientes que son homocigotos para HbC son sintomáticos o muestran una anemia muy moderada (Hb: 80 y 120 g/L), acompañada de reticulocitosis también moderada. La HCM es normal, pero la CHCM se halla característicamente aumentada. La observación morfológica de la extensión de sangre teñida muestra los característicos cristales intraeritrocitarios de HbC, la mayoría de las veces en forma de barra gruesa. Junto a ello, se observan también eritrocitos en diana más pequeños que los que se observan en la hepatopatía crónica (fig. 8.20).

Muchos de estos enfermos se diagnostican con ocasión de exámenes clínicos rutinarios o al detectarse la esplenomegalia que, con relativa frecuencia, acompaña a esta hemoglobinopatía. No es infrecuente la existencia de episodios intermitentes de dolor abdominal, artralgias, y mucho más raras son las manifestaciones hemorrágicas o el priapismo. Como en todo síndrome hemolítico crónico, puede coexistir litiasis biliar, crisis de aplasia con motivo de una infección por el parvovirus humano (PVH) B19 o hiperesplenismo, condiciones todas ellas que agravan el cuadro clínico. La vida media eritrocítica está disminuida, con secuestro esplénico. Durante el embarazo, la anemia puede agravarse y, en ocasiones, puede desarrollarse también un cuadro de neumonía, particularmente de tipo viral, que facilita el diagnóstico.

El diagnóstico de HbCC requiere un estudio electroforético de hemoglobinas que muestra el 90% o más de HbC y un pequeño aumento de HbF. La fracción HbA es totalmente inexistente, aunque ésta tampoco se encuentra en el genotipo doble heterocigoto HbC/β^{0}-tal, con el cual debe establecerse el diagnóstico diferencial.

HbC heterocigota (HbAC). Es totalmente asintomática, tanto desde el punto de vista clínico como hematológico. Cabe destacar como dato anecdótico, pero no exento de interés clínico, que existen analizadores que, gracias a emplear procedimientos citoquímicos para la realización de la fórmula leucocitaria, no se produce lisis de los eritrocitos en el canal de las peroxidasas (H 6000 de Technicon)

con lo que éstos son falsamente analizados como linfocitos. Este artefacto permite un escrutinio simple y rápido de esta hemoglobinopatía, cuya confirmación requiere la realización de una electroforesis convencional[40].

Doble hemoglobinopatía S y C (HbSC). Es un síndrome drepanocítico doble heterocigoto, resultado de la herencia del gen β^S de un padre y del gen β^C de la madre. La interacción entre la HbS y la HbC favorece la falciformación. La enfermedad por SC es de un curso más benigno que la drepanocitosis, aunque siempre cursa con hemólisis (anemia moderada) y algunas de sus complicaciones parecen ser más frecuentes que en la forma homocigota de HbS (lesiones óseas y patología ocular). Las manifestaciones más frecuentes en la enfermedad SC son hematuria renal recidivante, necrosis aséptica de la cabeza del fémur o del húmero, episodios de infarto pulmonar, complicaciones al final del embarazo y en el puerperio y, con mayor frecuencia, manifestaciones oculares, como la retinopatía proliferativa, las hemorragias del vítreo y el desprendimiento de retina.

La exploración oftalmológica por el especialista debe formar parte de la asistencia interrumpida de todos los pacientes con síndromes drepanocíticos, lo que permite la prevención de trastornos oculares mediante fotocoagulación con láser o la criorretinopexia.

Otras hemoglobinopatías con alteración de carga superficial

Otras hemoglobinopatías con alteración de la carga superficial pero con solubilidad normal son la HbD, (D-Los Angeles, D-Punjab), la HbO Arab, la HbG y la HbE. Aunque la mayoría de ellas pueden diferenciarse entre sí mediante electroforesis convencional sobre acetato de celulosa (pH 8,6), a veces se requiere el empleo de diferentes soportes y valores de pH (electroforesis en gel de agar a pH 6,0) o de la electrofocalización[39]. La identificación del tipo de mutación exige, no obstante, un estudio estructural de la globina afectada, mediante procedimientos diversos, como el análisis de fragmentos peptídicos en cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o la secuenciación de la cadena proteica o identificación directa del aminoácido mutado[41,42].

La HbD presenta una movilidad electroforética a pH alcalino idéntica a la de la HbS, por lo que deben emplearse otros soportes y pH para diferenciarlas. Entre ellos, destaca la electroforesis sobre soporte en gel de agar a pH ácido. No obstante, en la práctica clínica pueden diferenciarse fácilmente, ya que la HbD presenta una solubilidad normal. Desde el punto de vista clínico, la forma homocigota de HbD o enfermedad HbDD se caracteriza por una anemia hemolítica y esplenomegalia moderadas. El VCM es normal excepto que se asocie a un gen β-talasemia (microcitosis y aumento de HbA_2). El diagnóstico se realiza mediante electroforesis, que muestra el 95% de HbD y trazas de HbA. Las fracciones de HbF y HbA_2 son normales. La asociación de HbD Punjab y HbS puede dar un cuadro clínico de anemia falciforme moderada. La HbDD Punjab es la forma más frecuente de HbD, y desde el continente africano se ha distribuido ampliamente por otras poblaciones del planeta.

La HbE (β26 Glu → Lys) también es una hemoglobinopatía muy frecuente, y se halla ampliamente distribuida por muchas áreas de la geografía mundial aunque, especialmente, en las del sudeste asiático. La prevalencia de esta hemoglobinopatía se atribuye a su fenotipo talasémico, ya que persiste de forma específica en las regiones con paludismo endémico, presente o pasado. Desde el punto de vista molecular la mutación que da lugar a la HbE activa una región críptica del DNA que, al competir con la región normal, disminuye la síntesis de RNAm y con ello la de cadena β (genotipo talasémico). Clínicamente, la HbE en su forma homocigota (HbEE) cursa con intensa microcitosis, hipocromía y codocitosis, y muy poca anemia, por lo que es indistinguible de un síndrome talasémico. Su diagnóstico exige la práctica de una electroforesis a pH alcalino, que muestra una fracción hemoglobínica anómala de migración algo más rápida que la HbC. Otra característica diferencial de la HbE es su inestabilidad molecular cuando se somete a agentes oxidantes. La asociación de HbE y β-talasemia puede dar lugar a un cuadro clínico de talasemia mayor. Finalmente, en su forma heterocigota (HbAE), esta hemoglobinopatía es clínicamente asintomática, aunque puede cursar con microcitosis, moderada poliglobulia y presencia de abundantes codocitos circulantes. La electroforesis de hemoglobinas a pH alcalino revela una fracción de, aproximadamente, el 30-35% de HbE, junto con las restantes fracciones normales de hemoglobina.

HEMOGLOBINOPATÍAS INESTABLES

Las hemoglobinas inestables obedecen a sustituciones de aminoácidos en lugares críticos de la molécula que, al disminuir su solubilidad, facilitan la formación de complejos de hemoglobina precipitada y desnaturalizada que reciben el nombre de cuerpos de Heinz. Los cuerpos de Heinz nunca se observan mediante la coloración convencional de May-Grünwald-Giemsa (MGG) sino que requieren la previa incubación de los eritrocitos con un colorante «vital» como por ejemplo azul de cresilo brillante o azul de metileno nuevo, habitualmente empleados en la tinción de reticulocitos. Hasta la actualidad, se han descrito más de 150 hemoglobinas inestables diferentes, la mayoría de las cuales van acompañadas de hemólisis crónica, casi siempre favorecida por la presencia de infecciones intercurrentes o la ingesta de ciertos medicamentos oxidantes[13]. Por ello, estas hemoglobinopatías constituyen, junto al déficit de G6PD y algunas formas de hemólisis inmune por ingesta de fármacos, una causa de las llamadas «anemias hemolíticas medicamentosas». El patrón hereditario de las hemoglobinas inestables es autosómico dominante, por lo que la enfermedad se manifiesta en estado heterocigoto, y sus formas homocigotas probablemente son incompatibles con la vida. Cabe destacar que dentro del grupo de hemoglobinas inestables se ha descrito una mayor frecuencia de mutaciones espontáneas.

La hemoglobinopatía inestable más frecuente y primeramente descrita es la Hb Köln, ampliamente distribuida por toda la geografía mundial, con especial incidencia

en España. Le siguen en frecuencia la Hb Hammersmith, Hb Génova y Hb Zurich. La expresividad clínica de estas diferentes hemoglobinas inestables es variable, siendo la más grave la Hb Hammersmith y la más leve la Hb Zurich que, prácticamente, es asintomática.

Mecanismo molecular y fisiopatología

La inestabilidad molecular en este tipo de variantes puede ser debida a diferentes clases de mutaciones en lugares críticos de la molécula: *a*) sustituciones aminoacídicas en la cavidad del grupo hemo (Hbs Hammersmith, Köln); *b*) mutaciones que afectan a la estructura secundaria de la cadena globínica (Hbs Duarte, Santa Ana, Madrid, Génova); *c*) sustituciones de un residuo apolar interno por otro polar, alterando la estructura terciaria (Hbs Bristol, Volga), y *d*) mutaciones que alteran las superficies de contacto α/β provocando una disociación de las cadenas globínicas (Hbs Philly, Tacoma, Khartoum). Los tipos de mutaciones que pueden dar lugar a hemoglobinopatías inestables se representan en la tabla 9.3. En la mayoría de los casos, el resultado de estas alteraciones es la precipitación de la Hb con la formación de cuerpos de inclusión intraeritrocitarios o cuerpos de Heinz.

Los cuerpos de Heinz, junto con la alteración morfológica que producen, disminuyen la deformabilidad eritrocitaria y constituyen la principal causa de hemólisis. Sin embargo, el bazo tiende a eliminarlos mediante un proceso llamado *pitting*, el cual, aunque forma parte de su función normal, cuando los cuerpos de inclusión son muy numerosos o excesivamente grandes, producen una lesión irreversible de la membrana eritrocitaria, eliminándose así rápidamente los eritrocitos de la circulación. La formación de cuerpos de Heinz se inicia con la oxidación de hierro hemínico y la formación de metahemoglobina, fenómeno que va acompañado de la liberación del radical superóxido (0^{2-}). Según la mutación y después de la formación de metahemoglobina, la formación de cuerpos de Heinz puede hacerse por dos mecanismos diferentes[13]: *a*) disociación de las subunidades hemoglobínicas, seguida de desheminización y precipitación de la globina, y *b*) formación de hemicromos o moléculas de metahemoglobina en las que la quinta y la sexta valencia de coordinación del ion férrico se hallan unidas a la cadena de globina (fig. 9.7).

Manifestaciones clínicas

Las hemoglobinas inestables se transmiten hereditariamente con carácter autosómico dominante, y cursan con un cuadro de anemia hemolítica, generalmente crónica y de intensidad variable. El grado de hemólisis depende del tipo de mutación, y su efecto sobre la estabilidad hemoglobínica puede verse agudizado por factores diversos, como la ingesta de ciertos medicamentos oxidantes o la coexistencia de infecciones intercurrentes. La hemoglobina inestable más frecuente es la Hb Köln, que cursa con anemia hemolítica crónica, casi siempre de poca intensidad. En otros casos, la hemólisis puede ser más intensa (Hb Hammersmith) o ir acompañada de diseritropoyesis (Hb Indianápolis). Algunas hemoglobinopatías cuya manifestación clínica principal es la cianosis (HbM Saskatoon, HbM Hyde Park, HbM Boston) o la poliglobulia (HbM Bethesda) también pueden ir acompañadas de cierto grado de inestabilidad molecular y hemólisis crónica, casi siempre bien compensada. Se han descrito muchos casos de hemoglobinopatías inestables asociadas al fenotipo de α-talasemia (Hb Suan Dok, Hb Petah Tikva, Hb Fort Worth, Hb Ann Arbor, Hb Quong Sze) que, principalmente, obedecen a mutaciones que afectan el tercer exón y producen un fenotipo más grave que el clásico de una α-talasemia heterocigota. Cuando la hemoglobinopatía inestable se asocia a una β-talasemia (HbE, Hb Knossos, Hb Indianápolis, Hb Houston, Hb Manhattan) el cuadro clínico suele ser el de una talasemia intermedia.

La intensidad del cuadro clínico depende de varios factores: *a*) grado de inestabilidad; *b*) tendencia a formar meta-Hb, y *c*) afinidad por el oxígeno. Son relativamente frecuentes las crisis de eritroblastopenia por infección del parvovirus humano B19.

TABLA 9.3

Tipos de mutaciones que pueden ser causa de inestabilidad de la hemoglobina (hemoglobinas inestables)

Mutación	Consecuencia	Ejemplos
1- Mutaciones en la cavidad del hemo	Pérdida del grupo hemo	Hb Hammersmith Hb Köln
2- Sustitución de residuos internos con diferente grado de polaridad	Alteración estructural	Hb Bristol Hb Volga
3- Mutaciones de la hélice α	Alteración conformacional	Hb Duarte Hb Santa Ana Hb Madrid Hb Génova
4- Alteraciones en las zonas de contacto α_1-β_1	Disociación de las cadenas de globina	Hb Philly Hb Tacoma Hb Khartoum

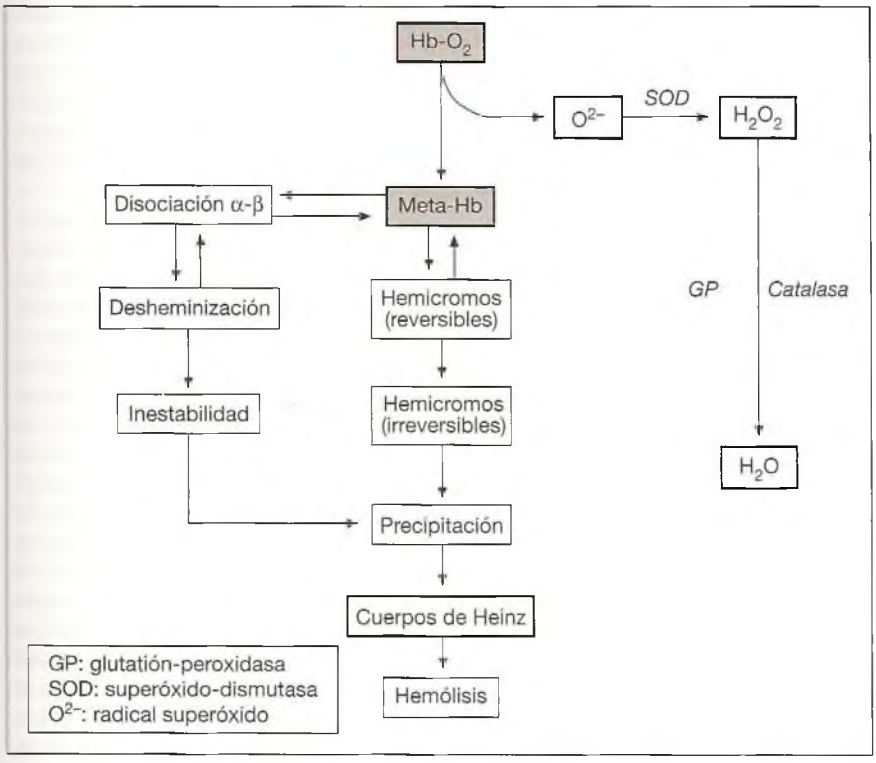


Figura 9.7. Mecanismo de formación de cuerpos de Heinz en las hemoglobinopatías inestables. Para la explicación, véase el texto.

Diagnóstico

El diagnóstico de las hemoglobinopatías inestables puede realizarse mediante las siguientes pruebas[39,40]:

1. Demostración de formación de cuerpos de Heinz espontáneos. Los cuerpos de Heinz intraeritrocitarios se ponen de manifiesto mediante tinción vital (azul de cresilo brillante o violeta de metilo) de la sangre periférica. Debe señalarse que ello sólo es evidente cuando el paciente ha sido esplenectomizado debido a la desaparición del fenómeno *pitting*. En pacientes no esplenectomizados, puede inducirse la formación de cuerpos de Heinz mediante incubación de los eritrocitos a 37 °C durante 24 horas.
2. Prueba de estabilidad al calor (termoestabilidad) de la hemoglobina. Consiste en incubar a 50 °C una solución amortiguada (a pH constante) de hemoglobina durante 2 horas. La positividad de la prueba viene dada por la aparición, poco después de iniciada la incubación, de un precipitado blanco, en general muy visible.
3. Prueba de estabilidad química mediante incubación del hemolizado con solución de alcohol isopropílico a 37 °C durante 30 minutos.
4. Electroforesis de hemoglobinas. Dado que las hemoglobinas inestables no suelen ir acompañadas de alteraciones en la carga eléctrica, su migración electroforética suele ser normal. No obstante, en algunas de ellas (Hb Köln), la disociación espontánea de la molécula durante el recorrido electroforético suele ponerse de manifiesto por la aparición de un arrastre detras de la HbA, con aparición de varias fracciones difusas o mal delimitadas.

Tratamiento

La mayoría de individuos afectados de hemoglobinopatía inestable no requieren tratamiento y, al igual que en el déficit de G6PD, debe evitarse en lo posible el contacto con medicamentos oxidantes. En caso de anemia hemolítica intensa puede ensayarse la esplenectomía, con lo que puede conseguirse una mejoría del cuadro clínico en, aproximadamente, el 50% de casos.

HEMOGLOBINOPATÍAS CON ALTERACIÓN DE LA AFINIDAD POR EL OXÍGENO

Al igual que otras hemoglobinopatías estructurales, las variantes con alteración de la afinidad por el oxígeno presentan una herencia autosómica dominante, aunque se han descrito bastantes mutaciones espontáneas[13]. Debido a ello, sólo se observan heterocigotos, porque el estado homocigoto es incompatible con la vida. Los individuos afectados son, por tanto, heterocigotos, y sus eritrocitos contienen una cantidad aproximadamente igual de hemoglobinas A y patológica. Hasta la actualidad se han descrito unas 118 variantes de hemoglobina que muestran una alteración de su afinidad por el oxígeno.

Mecanismo molecular y fisiopatología

El defecto molecular de estas hemoglobinopatías reside en la sustitución de un aminoácido en el punto de contacto entre las cadenas alfa y beta, lugares críticos para el cambio conformacional, imprescindible para la fijación reversible del oxígeno molecular y el mantenimiento del equilibrio oxi-Hb/desoxi-Hb. Entre ellos destacan las siguientes mutaciones: *a*) las que afectan a

las superficies de contacto α_1-β_2; *b*) las situadas en la cavidad del hemo y desestabilización y pérdida del mismo; *c*) las situadas en la región C-terminal de la cadena β de globina, y *d*) las situadas en la cavidad central y que alteran la unión del 2,3-DPG a la cadena beta. Según el tipo de mutación, estas alteraciones estabilizan una de las dos conformaciones, y la hemoglobina presenta una mayor o menor afinidad por el oxígeno. Del conjunto de hemoglobinopatías con alteración de la afinidad por el oxígeno unas 80 presentan un aumento de la afinidad, y otras 35, una disminución. Junto con ello, muchas hemoglobinopatías de ambos grupos son también inestables.

Manifestaciones clínicas

Las hemoglobinopatías con aumento de la afinidad por el oxígeno son las más frecuentes, y suelen acompañarse de eritrocitosis (poliglobulia). Por ello, ante un paciente joven con eritrocitosis o poliglobulia aislada debe sospecharse, en primer lugar, una hemoglobinopatía con aumento de la afinidad por el oxígeno (poliglobulia familiar). Por el contrario, en un individuo adulto, especialmente si existe esplenomegalia, debe establecerse en primer lugar el diagnóstico diferencial con la policitemia vera (PV). La eritrocitosis obedece a un aumento de la eritropoyesis que se produce como consecuencia de la incapacidad de la hemoglobina para liberar oxígeno en los tejidos (hipoxia). Ello tiene como consecuencia un aumento de eritropoyetina (Epo) y, por tanto, un estímulo de la eritropoyesis (poliglobulia compensadora). En la PV la Epo se halla característicamente disminuida, lo que constituye un criterio importante para el diagnóstico diferencial. La intensidad de la eritrocitosis es variable, y a veces es tan ligera que no va acompañada de un aumento real de la masa eritrocitaria (eritrocitosis relativa). En general, la eritrocitosis nunca es tan intensa como la que se observa en la PV, excepto en el caso de Hb Malmö, en la que es muy intensa y va acompañada de un síndrome de hiperviscosidad sanguínea. Otros ejemplos de hemoglobinopatías inestables son la Hb Chesapeake y la HbJ Capetown.

Las hemoglobinopatías con disminución de la afinidad por el oxígeno son mucho menos frecuentes, y suelen asociarse a anemia y cianosis. Dado que muchas de estas hemoglobinopatías son también inestables, la mayoría de las veces el cuadro anémico obedece a la hemólisis crónica. La cianosis obedece al exceso de hemoglobina desoxigenada (color azul) presente en los territorios capilares de la piel y de las mucosas[13]. Su presencia, de forma aislada, debe hacer pensar en la existencia de este tipo de hemoglobinopatías, aunque su diagnóstico ha de basarse siempre en los antecedentes clínicos, la electroforesis de hemoglobinas y la medida de la afinidad de la Hb por el O_2, o P_{50}. Son ejemplos de hemoglobinopatías con disminución de la afinidad por el oxígeno la Hb Seattle, la Hb Vancouver y la Hb Mobile.

Diagnóstico

Dentro de las causas de eritrocitosis, las hemoglobinopatías ocupan, en realidad, un lugar muy poco importante, por lo que ante un paciente con aumento de la masa eritrocitaria deben descartarse otras posibles causas de la misma, antes de establecer el diagnóstico. Con todo, la edad del paciente (joven), la ausencia de esplenomegalia, la ausencia de leucocitosis y trombocitosis y, sobre todo, el carácter familiar, son datos clínicos que sugieren la existencia de una hemoglobinopatía[13].

La confirmación diagnóstica exige la realización de varios exámenes complementarios, entre los que destacan el estudio electroforético de hemoglobinas y el análisis de su afinidad por el oxígeno. El estudio electroforético convencional (acetato de celulosa a pH alcalino) tiene una utilidad limitada, por cuanto sólo un pequeño número de estas hemoglobinopatías presentan una movilidad distinta a la de la HbA. Algunas variantes, sin embargo, pueden detectarse si se emplean diferentes soportes o valores de pH (electroforesis sobre agar a pH 6,0 o electrofocalización). El resto, presenta una movilidad electroforética normal. En cualquier caso, el diagnóstico definitivo exige poner de manifiesto la alteración funcional mediante el estudio de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno (determinación de la P_{50}). En una persona sana, el valor de la P_{50} obtenido a partir de sangre total (37°C y a pH 7,4) es de, aproximadamente, 25 mmHg. Una variación de 3 mm por encima o por debajo de este valor ya debe considerarse patológica. Al realizar el estudio de la P_{50}, debe tenerse siempre presente la influencia del 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG), que también debe ser cuantificado. Así, ante una alteración de la P_{50} en sangre total, hay que repetir la determinación en el hemolizado, totalmente desprovisto de 2,3-DPG, y si persiste la alteración, es muy probable que se trate de una hemoglobinopatía, cuya naturaleza habrá que identificar mediante otros procedimientos de estudio bioquímico o molecular.

Tratamiento

El carácter benigno de estas hemoglobinopatías conlleva el que, en la gran mayoría de casos, no sea necesario ningún tipo de tratamiento. Éste sólo debe plantearse cuando la intensa poliglobulia se asocia con un síndrome de hiperviscosidad, en cuyo caso será necesario recurrir a la práctica de sangrías.

HEMOGLOBINOPATÍAS M

La mutación por HbM puede afectar a las cadenas α o β, y se caracteriza por preservar el hierro de dos de los cuatro grupos hemo en estado férrico (Fe^{+++}) permanente. Debido a ello, estas hemoglobinas presentan una oxigenación parcial, y parte importante de ellas se halla siempre en estado desoxigenado. Por ello, a este tipo de metahemoglobinas se las conoce como HbM, y se clasifican según las diferentes áreas geográficas en las que se han descrito (tabla 9.1). Cuando la concentración de hemoglobina desoxigenada supera los 50 g/L la sangre adquiere una tonalidad azulada que se refleja en la piel y las mucosas dando lugar a cianosis[13].

Las hemoglobinas M se heredan con carácter autosómico dominante, y debido a ello, los portadores hetero-

cigotos presentan cianosis sin ningún otro trastorno, excepto en aquellos casos en los que la HbM es, además, inestable, y en los que a la cianosis se sobreañade un cuadro de hemólisis crónica (HbM Saskatoon y HbM Hyde Park). La cianosis es irreversible, y no cede con la administración de sustancias reductoras (ácido ascórbico o azul de metileno). Con frecuencia, se observa también una moderada eritrocitosis que aparece como consecuencia de la hipoxia crónica.

El diagnóstico diferencial de las hemoglobinopatías M debe establecerse con otras causas de metahemoglobinemia congénita como, por ejemplo, el déficit de NADH-diaforasa y la persistencia del orificio interauricular (niños azules), o adquirida, como la ingestión de sustancias tóxicas (metahemoglobinemia tóxica) o insuficiencia cardiorrespiratoria crónica. El diagnóstico diferencial con el déficit de NADH-diaforasa (citocromo b5 reductasa) viene ya facilitado por el carácter autosómico recesivo de este último, así como por la desaparición de la cianosis con la administración de sustancias reductoras. La metahemoglobinemia tóxica aparece en individuos sanos expuestos a ciertos medicamentos oxidantes o a determinados compuestos del medio ambiente con intensa actividad oxidante. En estos individuos con defensas antioxidantes normales la intensidad del agente tóxico supera su capacidad de defensa y produce metahemoglobinemia y cianosis. El característico color marrón de la metahemoglobinemia facilita el diagnóstico de la intoxicación en la misma cabecera del enfermo al realizar la extracción sanguínea.

Diagnóstico

La HbM (metahemoglobina) se diferencia de la HbA mediante electroforesis a pH neutro, ya que en estas condiciones presenta menor movilidad. La confirmación diagnóstica exige la demostración del origen de la metahemoglobinemia, por lo que deben analizarse sus características espectroscópicas[40,43]. Así, la HbM no suele ir acompañada de metahemoglobinemia superior al 25%, y sus características espectroscópicas son diferentes a las de la metahemoglobina A normal (fig. 9.8).

Dado que la metahemoglobina es un pigmento oscuro, los pacientes con metahemoglobinemia tóxica muy intensa tienen la sangre de color achocolatado. Esta característica permite hacer ya el diagnóstico del caso en la misma cabecera del enfermo, después de realizar la extracción sanguínea.

Tratamiento

A diferencia de la cianosis secundaria a enzimopatía (déficit de NADH-diaforasa), que desaparece con la administración de azul de metileno u otros agentes reductores, la debida a HbM carece de tratamiento.

PREVENCIÓN Y DIAGNÓSTICO PRENATAL DE LAS HEMOGLOBINOPATÍAS Y TALASEMIAS

La prevención y el diagnóstico prenatal de las hemoglobinopatías que generen un compromiso grave para la vida de los enfermos constituye una práctica común en

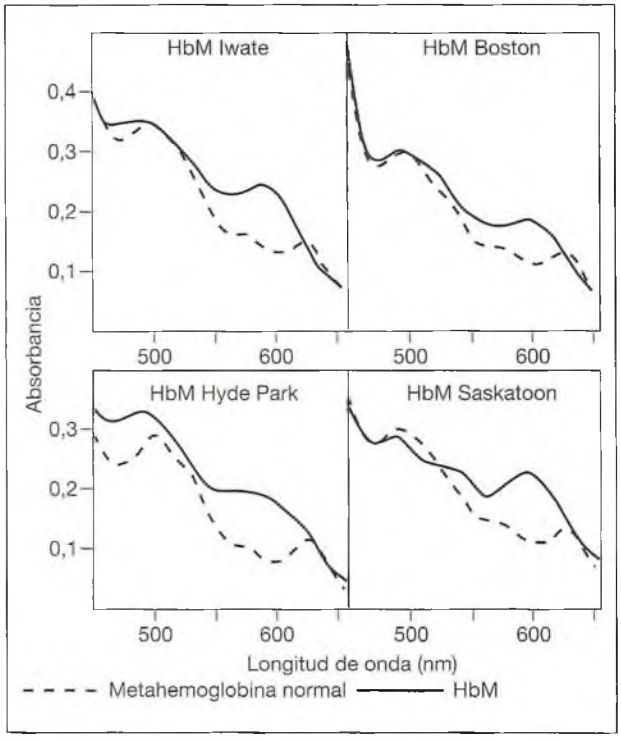


Figura 9.8. Características espectroscópicas de la HbM.

aquellos países en los que su frecuencia las convierte en un problema sanitario para la población. La prevención debe procurarse, en primer lugar, mediante el consejo genético de los portadores heterocigotos. En caso de talasemia, los portadores heterocigotos pueden identificarse fácilmente (microcitosis) mediante un examen hematológico rutinario o realizado con motivo de un chequeo. Asimismo, en muchos países existen programas oficiales para el cribado neonatal de ciertas hemoglobinopatías de impacto sanitario como, por ejemplo, la hemoglobinopatía S causante de la drepanocitosis. Los procedimientos que se emplean para realizar el cribado neonatal son diversos, aunque los más utilizados son la electroforesis de hemoglobinas en soportes estandarizados y la cromatografía de alta resolución (HPLC). Las características de algunos de estos equipos ya han sido comentadas en otro apartado de este capítulo, y basta con mencionar solamente que muchos de ellos permiten también determinar la hemoglobina glicada (HbA_{1c}). Otro procedimiento algo más engorroso pero de gran sensibilidad para el diagnóstico prenatal de las talasemias (β-talasemias y α-talasemias) es la síntesis *in vitro* de cadenas globínicas, aunque para ello debe partirse necesariamente de sangre fetal obtenida por fetoscopia. El avance tecnológico experimentado por la biología molecular hace posible identificar el genotipo de la mayoría de talasemias con procedimientos muy simples y asequibles a un elevado número de laboratorios. Existen firmas comerciales que han desarrollado *kits* con los que con muy poca muestra pueden analizarse en muy poco tiempo un elevado número de posibles mutaciones[44,45]. Si mediante el consejo genético no se logra evitar el embarazo, el procedimiento preventivo de elec-

ción en situaciones de alto riesgo es la práctica de un diagnóstico prenatal mediante análisis de DNA fetal obtenido a las 12-18 semanas de vida (amniocentesis o biopsia coriónica). Mediante biopsia coriónica pueden obtenerse mayores cantidades de DNA que con la amniocentesis; consiste en la inserción de una cánula flexible en el útero a través del cuello, y en la obtención de una muestra de vellosidades coriónicas cuyo estudio puede realizarse directamente sin necesidad de cultivo previo (fig. 9.9). El diagnóstico prenatal de hemoglobinopatías está facilitado por el extraordinario progreso experimentado por la biología molecular en los últimos años, lo que ha permitido ofrecer diferentes metodologías de gran sensibilidad y especificidad[46].

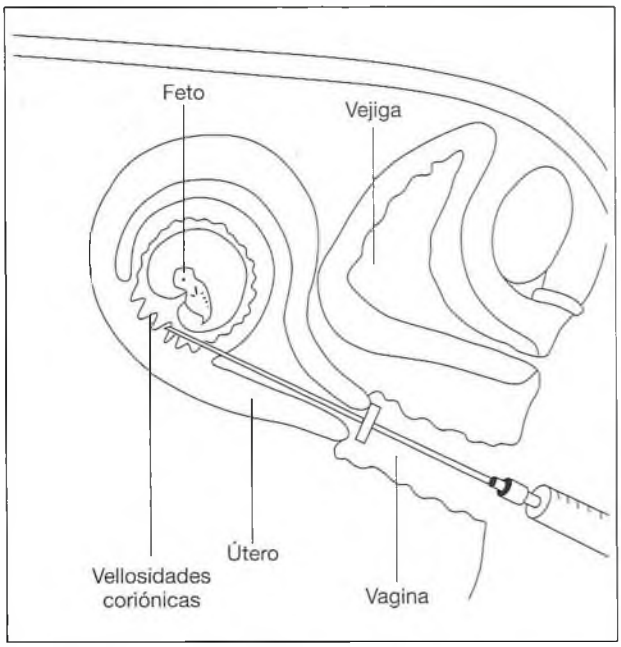


Figura 9.9. Método para el diagnóstico prenatal de hemoglobinopatías mediante análisis del DNA obtenido de las vellosidades coriónicas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR, Wood WG. The Hemoglobinopathies. En: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS et al (eds.). The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Diseases, 8.ª ed. Edinburgh: Elsevier, 2000.
2. Lukens JN The abnormal hemoglobins: general principles. En: Greer JP, Glader BE, Paraskevas F, Rodgers GM, Foerster J, Lukens JN (eds.). Wintrobe's Clinical Hematology, 11.ª ed, New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2003.
3. Herrick JB. Peculiar elongated and sickle-shaped red blood corpuscles in a case of severe anemia. Arch Intern Med 1910; 6:517-521.
4. Pauling L, Itano HA, Singer SJ, Wells IC. Sickle-cell anemia, a molecular disease. Science 1949; 110:543-548.
5. Carver MF, Huisman THJ. International Hemoglobin Information Center Variant List. Hemoglobin 1966; 20:213-225.
6. Cantalejo MA. Registro Español de Hemoglobinopatías. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. cantalejo.hgugm@salud.madrid.org.
7. Sauntharajah Y, Vichinsky P., Embuny AH. Sickle-cell disease. En: Hoffman R, Benz EB, Shattil S et al (eds.). Hematology Basic Principles and Practice, 4.ª ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005; 605-644.
8. Serjeant GR. The geography of sickle cell disease. Opportunities for understanding its diversity. Ann Saudi Med 1994; 14:237-246.
9. Embury SH, Hebbel RP, Mohandas N, Steinberg MH. Sickle Cell Disease: Basic Principles and Clinical Practice. Raven Press, 1994.
10. Serjeant GR. Sickle Cell Disease, 2.ª ed. Oxford University Press, 1992.
11. Hebbel RP. Beyond Hemoglobin Polymerization: The Red Blood Cell and Sickle Disease Pathophysiology. Blood 1991; 2:214-237.
12. Mankad VN, Moore RB. Sickle Cell Disease: Pathophysiology, Diagnosis and Management. Westport: CT Praeger, 1992.
13. Beutler E. The Sickle Cell Diseases and related Disorders. En: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U (eds.). Williams Hematology, 6.ª ed. New York: McGraw Hill, 2001; 581-606.
14. Miller ST. Sleeper LA, Pegelow CH, Enos LE, Wang WC, Weiner SJ. Predicton of adverse outcomes in children with sickle cell disease. New Engl J Med 2000; 342:83-89.
15. Platt OS, Brambilla DJ, Rosse Wet et al. Mortality in sickle cell disease. Life expentancy and risk factors for early death. New Engl J Med 1994; 330:1639-1644.
16. Platt OS, Dover GJ. Sickle Cell disease. En: Nathan DG, Oski FA (eds.). Hematology of Infancy and Childhood, 4.ª ed. Philadelphia: WB Saunder, 1994; 732-782.
17. Yaster M, Lost-Byerly S, Maxwell LG. The management of pain in sickle cell disease. Pediatr Clin North Am 2000; 47:699-710.
18. Franklin Bunn H. Mechanisms of Disease. Pathogenesis and Tratment of Sickle Cell Disease. N Engl J Med 1997; 337:762-769.
19. Lane PA. Sickle Cell Disease. Pediatr Clin North Am 1996; 43: 639-664.
20. Vichhinsky EP, Neumayr LD, Earles AN et al. Causes and outcomes of the acute chest syndrome in sickle cell disease. New Engl J Med 2000; 342:1855-1865.
21. Powars D, Weidman JA, Odom-Maryon T. Sickle cell chronic disease: prior morbidity and the risk of pulmonary failure. Medicine (Baltimore) 1988; 67:66-76.
22. Wang WC, Lanston JW, Steen G et al. Abnormalities of the central nervous system in very young children with sickle cell anemia. J Pediatr 1998; 132:994-998.
23. Allon M. Renal abnormalities in sickle cell disease. Arch Int Med 1990; 150:501-505.
24. Dover GJ, Smith KD, Chang YC et al. Fetal hemoglobin levels in sickle cell disease and normal individuals are partiallly controled by an X-linked gene located at Xp22.2. Blood 1992; 80:816-824.
25. Nagel RL, Erlingsson S, Fabry ME et al. The Senegal DNA haplotype is associated with the amelioration of anemia in África-American sickle cell anemia patients Blood 1991; 77:1371-1375.
26. Sociedad Española de Hematología Pediátrica (ESHP) Protocolo de anemia de células falciformes o drepanocitosis. DREP-2002-SEHP. mcantalejo.hgugm@salud.madrid.org.
27. Steinberg MH. Management of Sickle Cell Disease. New Engl J Med 1999; 340:1021-1030.
28. Adams-Graves P, Kedar A, Koshy M et al. RheothRx (poloxamer 188) injection for the acute painful episode of sickle cell disease: a pilot study. Blood 1997; 90:2041-2046.
29. Lori A Styles, and Elliot P. Vichimky. New Therapies and approaches to transfusion in sickle cell disease in children. Hematology and Oncology Current Opinion in Pediatrics 1997; 9:41-45.

CAPÍTULO 10

Talasemias y síndromes talasémicos

J. L. Vives Corrons

ÍNDICE

Talasemias. Clasificación
Mecanismos fisiopatológicos
Mecanismos moleculares
Métodos de estudio molecular
Patología molecular de las talasemias
α-Talasemia
β-Talasemia
δβ-Talasemia
Persistencia hereditaria de la hemoglobina fetal (PHHF)
Hemoglobinopatías talasémicas
Manifestaciones clínicas y diagnóstico
α-Talasemia
Rasgo talasémico
Hemoglobinopatía H (HbH)
α-Talasemia asociada con retraso mental (ATR)
α-Talasemia asociada a síndrome mielodisplásico (síndrome ATMDS)
Hidropesía fetal
β-Talasemia
Talasemia silente
Talasemia menor
Talasemia intermedia
Talasemia mayor (anemia de Cooley)
δβ-Talasemia
Persistencia hereditaria de hemoglobina fetal (PHHF)
PHHF pancelular
PHHF heterocelular
Tratamiento
Transfusiones
Administración de quelantes de hierro
Esplenectomía
Trasplante de médula ósea (TMO)
Terapia génica
Bibliografía

TALASEMIAS. CLASIFICACIÓN

La talasemia constituye, en realidad, un grupo heterogéneo de defectos congénitos de la hemoglobina con expresividad clínica variable (síndromes talasémicos), cuya consecuencia es la disminución o ausencia de la síntesis de cadenas de globina estructuralmente normales[1]. Su mecanismo de transmisión hereditaria es autosómico dominante, pero como se expresan ambos genes, el normal y el patológico, se le atribuye un carácter codominante. Etimológicamente, el término *talasemia* procede de la unión de dos palabras griegas; mar (*θαλασσα-thalassa*) y sangre (*αιμα-aima*), y con esta denominación, George Whippe quiso dar a entender que esta enfermedad mostraba especial predilección por las poblaciones que habitaban junto al mar, en nuestro caso, el mar Mediterráneo[2]. Entre las poblaciones que habitan la cuenca del mar Mediterráneo destacan Grecia, Chipre, sur de Italia, Cerdeña, Sicilia, Mallorca y extensas áreas de la península Ibérica con una frecuencia que varía entre el 1 y el 30% de la población y un predominio de β-talasemia. En España, su incidencia, relativamente elevada, se caracteriza por una distribución irregular y una marcada heterogeneidad genotípica[3,4]. Posteriormente, se ha observado que esta enfermedad es también prevalente en países de Oriente Medio, sudeste asiático y China, en los que la frecuencia varía entre el 5 y el 40% de la población. Al igual que las hemoglobinopatías estructurales, esta distribución geográfica guarda cierta relación con las zonas en las que existe o ha existido el paludismo endémico, aunque debido a la importante migración entre poblaciones de todas las partes del mundo, hoy día puede admitirse que la talasemia se halla presente en toda la geografía mundial (www.who.int/ncd/hgn/haemogl.htm). Gracias al impulso de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en países en los que la talasemia es prevalente, la implantación de programas de escrutinio neonatal, el empleo de procedimientos diagnósticos adecuados y la

realización sistemática del consejo genético han contribuido a una disminución progresiva de su morbilidad y mortalidad, aunque por desgracia, el objetivo último de erradicar completamente la enfermedad está aún lejos de ser alcanzado[5].

Los síndromes talasémicos indican la existencia de una elevada heterogeneidad clínica debido a la correspondiente heterogeneidad molecular[1,6]. Los principales síndromes talasémicos se resumen en la tabla 10.1, y se denominan atendiendo al tipo de cadena globínica cuya síntesis está afectada. La disminución de la síntesis de cadenas α se denomina α-talasemia, la de cadenas β, β-talasemia, la de cadenas δ y β simultáneamente δβ-talasemia, y así sucesivamente. La disminución en la síntesis de un tipo de cadena globínica rompe el equilibrio normal entre las cadenas α y β, y conduce a la acumulación intracelular de una de ellas.

TABLA 10.1

Principales formas de talasemia

α-talasemia	α^0
	α^+(delecional/no delecional)
β-talasemia	β^0
	β^+
	con HbA_2 normal
δβ-talasemia	$(\delta\beta)^0$
	$(^A\gamma\delta\beta)^0$
	$(\delta\beta)^+$
γ-talasemia	γ^0
δ-talasemia	δ^0
	δ^-

Las formas mejor caracterizadas y clínicamente más importantes de talasemia son la α, β y δβ-talasemia. Cada una de ellas puede clasificarse, a su vez, biológicamente, según que exista una síntesis deficiente o parcial de cadenas globínicas por parte del cromosoma afectado [α^+, β- y (δβ-talasemia)] o una ausencia total de síntesis de las mismas [α^0, β^0 y (δβ-talasemia)]. La persistencia hereditaria de la hemoglobina fetal (PHHF) es una condición relacionada con estos síndromes talasémicos, que puede considerarse como una forma particular leve de β o δβ-talasemia, en la que la producción defectiva de las cadenas β está compensada por la síntesis persistente de cadenas γ tras el período neonatal. En muchas poblaciones, las talasemias coexisten con una gran variedad de hemoglobinopatías estructurales, por lo que resulta bastante frecuente la asociación de ambas alteraciones genéticas. Asimismo, también es relativamente frecuente que un mismo individuo reciba genes para más de un tipo de talasemia. Estas complejas interacciones dan lugar a un amplio espectro de fenotipos talasémicos cuya expresividad clínica puede variar desde una anemia hemolítica muy intensa dependiente de transfusión sanguínea, hasta formas prácticamente asintomáticas (rasgo talasémico), con numerosas manifestaciones intermedias de carácter heterogéneo[6].

La α-talasemia constituye la alteración genética más frecuente en la población mundial, y está ampliamente extendida a través de los países mediterráneos. La α-talasemia es el resultado de la disminución de cadenas α-globina de la HbF ($\alpha_2\gamma_2$) y de la HbA adulta ($\alpha_2\beta_2$). Las formas más frecuentes de α-talasemia son las que se asocian con anemias microcíticas e hipocromas no ferropénicas sin expresividad electroforética (microcitosis familiares atípicas), y las más graves son la hemoglobinopatía H y la hidropesía fetal, que vienen determinadas por la presencia de HbH y Hb Bart, respectivamente. La síntesis de las cadenas α-globina viene determinada por la expresión de la agrupación de genes α-*cluster α-globina* situada en el brazo corto del cromosoma 16. La patología molecular de la α-talasemia obedece, en la mayoría de los casos, a deleciones de diversa longitud que eliminan desde un solo gen α-globina (α^+-talasemia) hasta todo el complejo de genes α-globina (α^0-talasemia) de un mismo cromosoma. El defecto molecular causante del 86% de las α-talasemias es la deleción de 3,7 kb ($-\alpha^{3,7}$) que da lugar a la pérdida de un gen α-globina y un fenotipo α^+-talasemia. Actualmente, esta deleción puede identificarse de forma rápida y segura en la práctica clínica mediante PCR, utilizando la combinación de diferentes pares de cebadores[7].

La β-talasemia es el resultado de una disminución en la producción de cadenas β de la globina, y según la intensidad de esta disminución puede clasificarse en *β^0-talasemia* (ausencia total de síntesis de cadenas β-globina) y *β^+-talasemia* (síntesis deficiente o parcial de cadenas β-globina). La diferente expresividad clínica de la β-talasemia resulta de la combinación de ambas posibilidades o de cada una de ellas con el gen normal, y la participación de ambas formas bajo diferentes combinaciones da lugar a los fenotipos talasémicos hasta ahora conocidos. La β-talasemia tiene su origen, principalmente, en mutaciones puntuales que afectan al gen β-globina situado en el cromosoma 11, y pueden producir defectos en la transcripción, maduración (procesamiento) o traducción del RNAm. El tipo de mutación más frecuente en el área mediterránea es la sustitución de una citosina por una guanina en el codón 39 (CAG → TAG), que provoca un cese prematuro de la transcripción (β^{39}). Asimismo, existen otros tres tipos de mutaciones con una incidencia relativamente alta en nuestro país: *a*) IVS-1 posición 1 (G → A); *b*) IVS1 posición 6 (T → C), y *c*) codón 6 (-A). La presencia de estas mutaciones en los pacientes con sospecha diagnóstica de β-talasemia puede determinarse mediante el empleo de técnicas de biología molecular como, por ejemplo, las basadas en la amplificación de alelos específicos mediante cebadores oligonucleotídicos especialmente elaborados para cada mutación (ARMS). Basándose en estos procedimientos, se han elaborado *kits* comerciales o equipos semiautomáticos que, de manera eficaz, permiten analizar, de forma simultánea y en muy poco tiempo, un elevado número de mutaciones del gen β, en general, las prevalentes en una determinada región geográfica[8].

Clínicamente, la β-talasemia puede clasificarse en tres grandes grupos: *a*) *talasemia mínima* o rasgo talasémico (asintomática); *b*) *talasemia menor* (anemia discreta o inexistente, con disminución del VCM); *c*) *talasemia intermedia* (anemia microcítica de intensidad variable y esplenomegalia), y *d*) *talasemia mayor* o *enfermedad de*

Cooley (anemia hemolítica crónica e intensa con esplenomegalia gigante y requerimiento transfusional).

La δβ-talasemia presenta una disminución o desaparición de la síntesis de cadenas δ y β. Su incidencia es mucho menor que la β-talasemia, pero al igual que ésta, constituye también una forma de talasemia muy heterogénea tanto clínica como molecularmente. La δβ-talasemia se divide en $(\delta\beta)^{+}$ y $(\delta\beta)^{0}$ talasemia, según el grado de síntesis de las cadenas δ y β por parte del cromosoma afectado. La δβ-talasemia, normalmente, obedece a largas deleciones que implican el cluster β-globina y eliminan los dos genes δ y β dejando intacto uno o los dos genes γ, por lo que se produce una síntesis compensadora de cadenas γ (HbF) superior a la que se observa en la β-talasemia.

La persistencia hereditaria de la hemoglobina fetal (PHHF) obedece a una deleción del cluster β. Este trastorno carece de expresividad clínica, aunque puede ir acompañado de cierto grado de microcitosis e hipocromía, y su característica más común es la persistencia de valores elevados de HbF durante la vida adulta.

MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS

El déficit de síntesis de cadenas α o β tiene tres consecuencias: *a*) disminución de la concentración intraeritrocitaria de hemoglobina y del VCM (*microcitosis* e *hipocromía*); *b*) formación de precipitados de la globina en exceso en el interior de los eritroblastos (*eritropoyesis ineficaz*), y *c*) disminución de la supervivencia en la circulación de los eritrocitos talasémicos (*hemólisis*). Tanto la eritropoyesis ineficaz como la hemólisis obedecen a la formación de precipitados de globina que lesionan los eritroblastos y facilitan su eliminación precoz, antes de terminar el proceso madurativo y la membrana de los eritrocitos, disminuyendo su supervivencia en la circulación[1,6]. En cualquiera de estos casos, la consecuencia es una anemia que estimula la absorción de hierro y aumenta la síntesis de eritropoyetina (Epo) (fig. 10.1). Como consecuencia de la mayor absorción de hierro, se produce un estado de sobrecarga férrica con peligro de lesión de tejidos vitales como hígado, páncreas o corazón. Este estado de sobrecarga férrica viene, a su vez, incrementado por efecto de las frecuentes transfusiones tal como sucede, por ejemplo, en la anemia de Cooley. Por su parte, la anemia estimula la síntesis de Epo, cuya concentración plasmática aumenta varias veces su valor fisiológico dando lugar a un estado de hiperplasia eritroide permanente. El predominio de uno u otro de estos mecanismos fisiopatológicos depende mayoritariamente del genotipo o de las características de la mutación implicada, lo que explica también el elevado polimorfismo clínico de los llamados *síndromes talasémicos*.

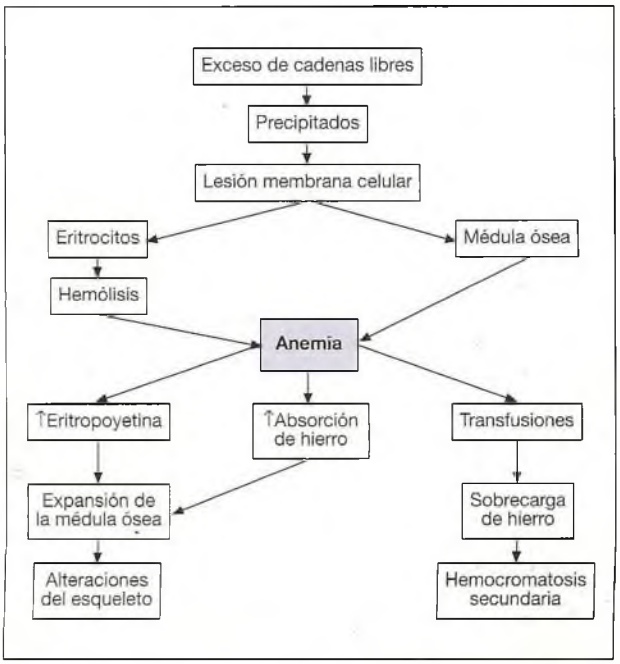


Figura 10.1. Mecanismo fisiopatológico de los trastornos clínicos que pueden observarse en la talasemia.

MECANISMOS MOLECULARES

Métodos de estudio molecular

Entre los métodos que más han contribuido al conocimiento del mecanismo molecular de los síndromes talasémicos destaca el Southern-blot y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La técnica de Southern-blot consiste en la incubación de DNA mediante enzimas de restricción, que lo seccionan selectivamente a nivel de determinados pares de bases, dando lugar a diferentes fragmentos llamados «de restricción»[9]. La identificación de estos fragmentos se consigue mediante una sonda de DNA marcada (^{32}P), que hibrida selectivamente las secuencias nucleotídicas correspondientes a los fragmentos que se desea identificar (fig. 10.2). Esta técnica presenta una elevada especificidad, pero su realización práctica es cara, laboriosa y requiere un mínimo de 7 días para obtener los resultados.

La reacción en cadena de la polimerasa (*polymerase chain reaction*) o PCR constituye el avance metodológico más importante dentro de las técnicas diagnósticas de biología molecular. Es un método rápido, sencillo y altamente sensible, que permite amplificar secuencias específicas de DNA o RNA mediante la obtención de un elevado número de copias de las mismas. Para ello se requieren dos oligonucleótidos (cebadores o *primers*), una mezcla de nucleótidos, un tampón o *buffer* de reacción con una concentración de magnesio adecuada y la enzima Taq polimerasa. En el caso del RNA, antes de la reacción de PCR es necesaria la transformación a DNAc mediante la enzima transcriptasa reversa. La PCR se desarrolla en tres etapas que constituyen un ciclo: 1) *desnaturalización* (94 °C) del DNA bicatenario a monocatenario; 2) *hibridación* (55-60 °C) de los cebadores a las secuencias complementarias de DNA, y 3) *extensión* (70-72 °C) en la que la Taq polimerasa sintetiza nuevas cadenas de DNA a partir de los cebadores, incorporando los nucleótidos de la reacción. El número de ciclos por reacción de PCR suele ser de 25-35, lo que produce un incremento exponencial del número de copias que se forman (fig. 10.3). Sin embargo, en la práctica, a partir del ciclo 15-20

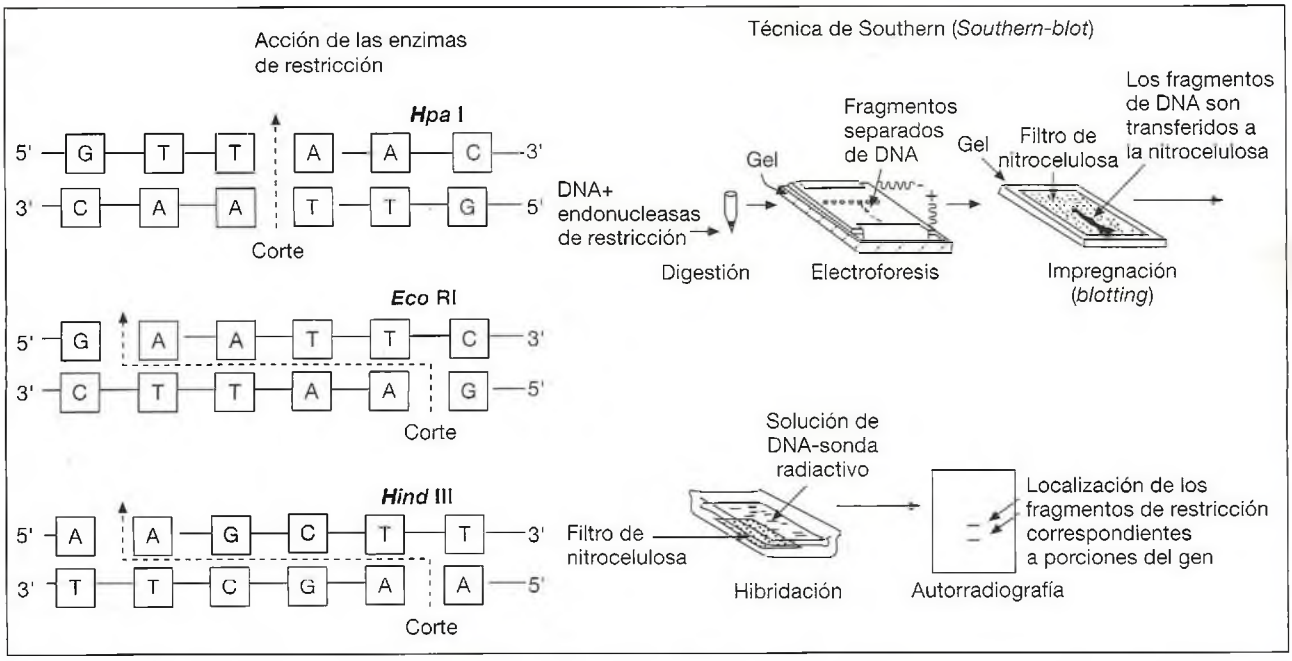


Figura 10.2. Mecanismo de acción de algunas enzimas de restricción (ER) y esquema de los principales pasos que constituyen la técnica de Southern-blot.

el proceso alcanza una meseta, por lo que cuando el número de copias del DNA diana es escaso, es conveniente efectuar dos PCR sucesivas (*nested* PCR).

Otras técnicas también basadas en la PCR han contribuido de manera decisiva tanto al rápido escrutinio de formas conocidas de talasemia como al hallazgo de nuevas mutaciones hasta ahora desconocidas[10-13]. Más recientemente, se ha demostrado también la utilidad de la espectrometría de masas como un procedimiento rápido y relativamente asequible para la detección de mutaciones en los genes de globina[14]. Con todo, desde un punto de vista práctico-asistencial, merece una mención especial la técnica de PCR-ER o digestión de los fragmentos de DNA, amplificados mediante endonucleasas de restricción (ER) apropiadas a la mutación que se desea analizar, y la técnica del polimorfismo conformacional de cadena sencilla o *single stranded conformational polymorphism* (SSCP). Esta última se basa en que una mutación altera la movilidad electroforética en un gel de acrilamida en condiciones no desnaturalizantes del fragmento monocatenario de DNA amplificado de manera que la presencia de una migración electroforética anormal indica la presencia, en el mismo, de una mutación[15]. De esta forma, se evita la secuenciación de todo el gen de la globina, quedando ésta limitada al fragmento de DNA (exón) con movilidad anómala.

Patología molecular de las talasemias

Las talasemias obedecen a dos tipos de alteraciones genéticas: 1) deleciones totales o parciales de uno o más genes de globina, y 2) formas no delecionales debidas a

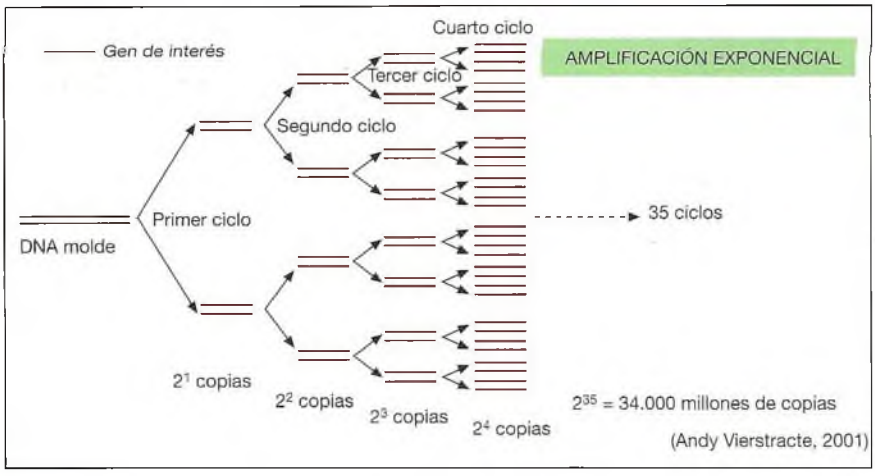


Figura 10.3. Fundamento de la amplificación exponencial del DNA mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

trastornos de la transcripción o maduración (procesamiento) del RNAm que disminuyen o anulan la síntesis de globina (traducción). En este último caso, el defecto molecular consiste en sustituciones de uno o varios nucleótidos del propio gen de globina (generalmente, intrones), en zonas de contacto entre intrones y exones o en regiones próximas o distantes al gen con acción reguladora sobre el mismo. Cabe destacar que mientras en la α y la δβ-Talasemias predominan las deleciones, en la β-Talasemia lo hacen las formas no delecionales. Para más información sobre el estudio de los mecanismos moleculares implicados en la síntesis normal y patológica de cadenas de globina puede consultarse el servidor de Huissman (http://globin.cse.psu.edu/globin/html).

α-Talasemia

La patología molecular de la α-Talasemia está determinada por una serie heterogénea de deleciones de diversa extensión que, en el caso de α-Talasemia, implican todo el complejo de genes α-globina o la región que regula su expresión (HS-40)[17]. Por otro lado, la α-Talasemia es el resultado de deleciones de menor tamaño que eliminan uno de los dos genes α-globina o de mutaciones puntuales (α-Talasemia no delecional) que, a pesar de dejar los genes intactos, pueden causar su inactivación parcial o completa.

α⁺-Talasemia. Los defectos moleculares más frecuentes en todas las poblaciones donde la α⁺-Talasemia es común son las deleciones de 3,7 kb ($-\alpha^{3,7}$) y 4,2 kb ($-\alpha^{4,2}$), que causan la pérdida del gen α_1 o α_2, respectivamente. La deleción de 3,7 kb es especialmente frecuente en el área mediterránea y en la población americana de raza negra, mientras que la deleción de 4,2 kb es más propia del sudeste asiático. El mecanismo por el cual tienen lugar estas deleciones está relacionado con la estructura del cluster α-globina. Cada gen α está localizado en una región de, aproximadamente, 4 kb de longitud, que se divide en tres segmentos homólogos (X, Y, Z), mediante tres regiones no homólogas (I, II, III). Los segmentos Z duplicados están situados a una distancia de 3,7 kb, mientras que los segmentos X están separados por 4,2 kb. La recombinación recíproca entre los segmentos Z genera dos tipos de cromosomas: el que contiene solamente un gen α ($-\alpha^{3,7}$, *rightward deletion*), causante de α-Talasemia, y el que contiene tres genes α ($\alpha\alpha\alpha^{anti3,7}$) (fig. 10.4). La recombinación entre los dos segmentos homólogos X puede, asimismo, dar lugar al fenotipo de α-Talasemia, como consecuencia de la pérdida de un gen α en un cromosoma ($-\alpha^{4,2}$, *leftward deletion*) y su integración en el otro ($\alpha\alpha\alpha^{anti4,2}$). Sucesivos procesos de recombinación entre los cromosomas obtenidos (α, αα, ααα), pueden generar genes α-globina cuadriplicados ($\alpha\alpha\alpha\alpha^{anti3,7}$, $\alpha\alpha\alpha\alpha^{anti4,2}$) u otras reorganizaciones poco frecuentes. También se han descrito otras deleciones cortas de 3,5 y 5,3 kb o formas delecionales de α⁺-Talasemia asociadas con variantes estructurales de la hemoglobina. En el caso de alteraciones en la cadena β-globina, las principales variantes hemoglobínicas asociadas con α-Talasemia, son la HbS y la HbE, observadas en individuos de origen africano y tailandés, respectivamente. Dado que los individuos sanos tienen cuatro genes α-globina, si uno de ellos es portador de una mutación para una variante estructural de hemoglobina, en los heterocigotos, ésta constituirá aproximadamente el 25% del total. Si la variante ocurre en un cromosoma

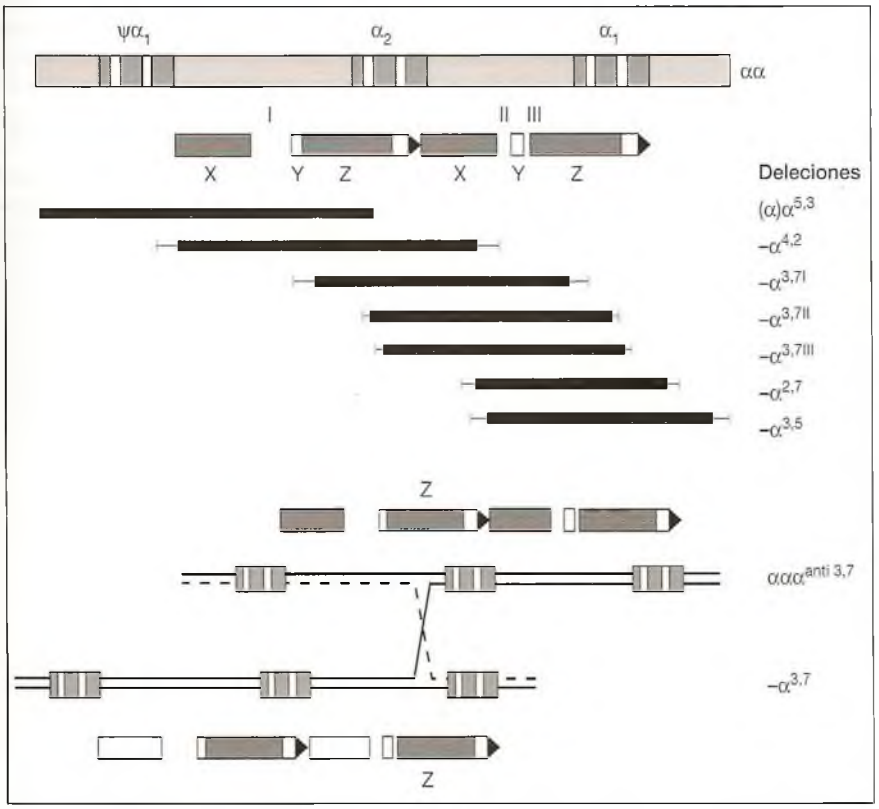


Figura 10.4. Deleciones que causan α⁺-Talasemia. En el *esquema superior* se hallan representados los genes α-globina que muestran la duplicación y localización de los segmentos homólogos (X, Y y Z) y de las regiones no homólogas (I, II, III). Las *barras negras* representan la extensión de las diferentes deleciones. Los *extremos de las barras* indican la región aproximada donde tiene lugar el punto de rotura de la deleción.

En el *esquema inferior* se muestra el mecanismo molecular responsable de la deleción de 3,7 kb. La recombinación no homóloga entre dos segmentos Z genera un cromosoma portador de la deleción ($-\alpha^{3,7}$) y un cromosoma con la triplicación de genes α ($\alpha\alpha\alpha^{anti3,7}$).

en el cual el otro gen α está delecionado (α^+-talasemia), la cantidad relativa de la variante en heterocigotos será mayor, aproximadamente, del 30% del total de hemoglobina. En el caso de que la Hb estructural esté asociada con un cromosoma portador de una deleción causante de α^0-talasemia, el fenotipo clínico resultante será el de la hemoglobinopatía H, donde la única forma presente de hemoglobina será la fracción anómala (HbX), y no existirá producción de Hb A ($-/-\alpha^X$).

α°-talasemia. La α°-talasemia obedece a deleciones de mayor tamaño (desde 5,2 kb hasta > 200 kb), que eliminan los dos genes estructurales α-globina de forma parcial [$-(\alpha)^{5,2}$ y $(\alpha)^{20,5}$] o completa (mayoría de los casos) y, por tanto, no existe síntesis *in vivo* de cadena α-globina por parte del cromosoma afectado. Hasta la fecha, se han descrito más de 20 deleciones que implican los dos genes α, e incluso el gen ζ_2 y algunas de ellas se extienden más allá de los límites actuales del DNA clonado alrededor de dichos genes (fig. 10.5). Si bien los individuos heterocigotos para estas variantes sobreviven y parece que se desarrollan normalmente, es poco probable que los homocigotos puedan sobrevivir incluso en estadios tempranos de gestación, dado que no existe producción ni de hemoglobinas embrionarias ($\zeta_2\gamma_2$, $\zeta_2\varepsilon_2$, $\alpha_2\varepsilon_2$) ni de HbF ($\alpha_2\gamma_2$). Los individuos homocigotos para estos defectos presentan *hidropesía fetal por Hb Bart*[8]. En algunos casos, las deleciones que dejan intacto el gen embrionario están acompañadas por una continua expresión de pequeñas cantidades de la cadena ζ-globina, tanto en la vida fetal como en la adulta. Muchas deleciones que causan α^0-talasemia, además de eliminar los dos genes estructurales α, producen la pérdida del gen θ_1, cuya función todavía no ha sido determinada. Éste es el caso, por ejemplo, de la deleción $--^{SEA}$, frecuente en el Sudeste asiático, que es una deleción que abarca aproximadamente unas 20 kb y que elimina los genes $\psi\alpha_2$, ψa_1, α_2, α_1 y θ_1. Algunas deleciones, incluyendo las asociadas con retraso mental eliminan los tres genes ζ, α y θ de la globina.

El análisis detallado de varias formas de α^0-talasemia indica que, habitualmente, son el resultado de recombinaciones ilegítimas o no homólogas. Tales procesos implican regiones parciales de secuencias homólogas en puntos de rotura que no abarcan toda la secuencia necesaria para que la recombinación sea homóloga. Frecuentemente, pueden encontrarse diversos miembros de la familia *Alu* I en o cerca de los puntos de rotura de estas deleciones. Las secuencias repetidas de la familia *Alu* I, frecuentes en el genoma (3×10^5 copias) y, particularmente, en el cluster α-globina, proporcionan secuencias que promueven intercambios entre las hebras de DNA durante la replicación. La deleción $--^{MED}$, prevalente en el área mediterránea, obedece a un proceso de reorganización aún más complejo, que inserta un nuevo fragmento de DNA entre los dos puntos de rotura de la deleción, localizados en el extremo 5′ del gen $\psi\zeta_1$ y en el extremo 5′ del gen θ_1[16].

Por último, algunas deleciones pueden afectar a la región reguladora de la expresión de los genes α-globina (HS-40). La primera aproximación sobre la existencia de dicha región se obtuvo a partir de un paciente con α-talasemia[17]. El cromosoma anormal $(\alpha\alpha)^{RA}$ de este paciente contenía una deleción de 62 kb, que eliminaba desde el gen ζ_2 hasta la región HS-40. A pesar de que los dos genes α permanecían intactos, se demostró que no eran funcionales. Posteriormente, se han descrito nuevas deleciones que eliminan la región HS-40 y dan lugar a un fenotipo α^0-talasemia (fig. 10.6).

α-talasemia no delecional. Las formas de α-talasemia sin deleción son cada vez mejor conocidas, y suelen ir acompañadas de disminuciones en la síntesis de la cadena α-globina más intensas que las observadas en las formas delecionales[1,6]. En general, obedecen a mutaciones puntuales, deleciones muy cortas y/o inserciones, que

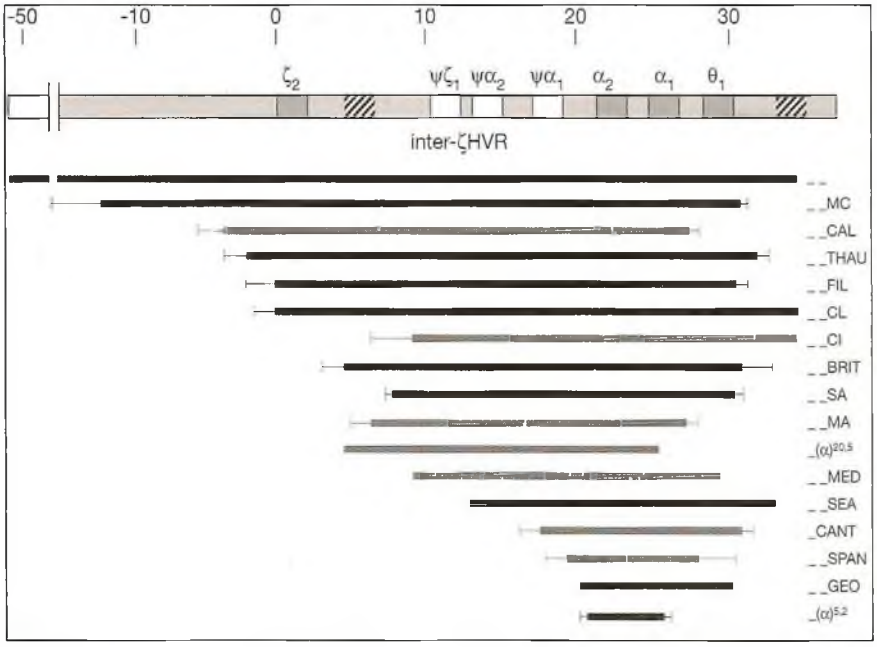


Figura 10.5. Deleciones que causan α^0-talasemia. En la *parte superior* esta representado el cluster α-globina. La extensión de cada una de las deleciones está indicada con barras de diferente longitud. En *gris* están señaladas las deleciones más frecuentes en el área mediterránea. Las regiones de los puntos de rotura, en aquellas deleciones que no han sido determinadas con exactitud, están limitadas con una línea más fina.

implican regiones codificadoras o secuencias reguladoras de la expresión genética. La gran mayoría de estas mutaciones afectan al gen α_2-globina, y parece que no están asociadas a cambios en la expresión del gen funcional α_1, como ocurre en el caso de las deleciones. Las mutaciones puntuales pueden alterar diferentes etapas en la expresión de los genes α, afectando la transcripción, procesamiento o traducción del RNAm (tabla 10.2).

1. *Defectos de maduración.* Hasta la actualidad se han descrito cinco mutaciones de este tipo, una de las cuales (deleción de 5 pb en el intrón 1 del gen α_2) se ha hallado en el área mediterránea. Esta mutación implica la región invariable GT, activando una secuencia consenso en el exón 1 que elimina la región en la que normalmente se produce la escisión seguida de la escisión (*splicing*) del RNAm. Dado que esta mutación elimina una diana de restricción para la enzima *Hph I*, puede ser detectada directamente mediante PCR (amplificación del gen α_2) y digestión con dicha enzima ($\alpha^{Hph}\alpha$). Otras mutaciones afectan a la señal poli (A) del gen α_2, y modifican el procesamiento del extremo 3' del RNAm. Se ha observado que este tipo de mutaciones van acompañadas también de una incorrecta terminación de la transcripción, lo que interfiere en la expresión del gen α_1-globina. La mutación de este tipo más frecuente en la región mediterránea es la $\alpha^{TSaudi}\alpha$, descrita por primera vez en un paciente de Arabia Saudita con triplicación de genes α[16].

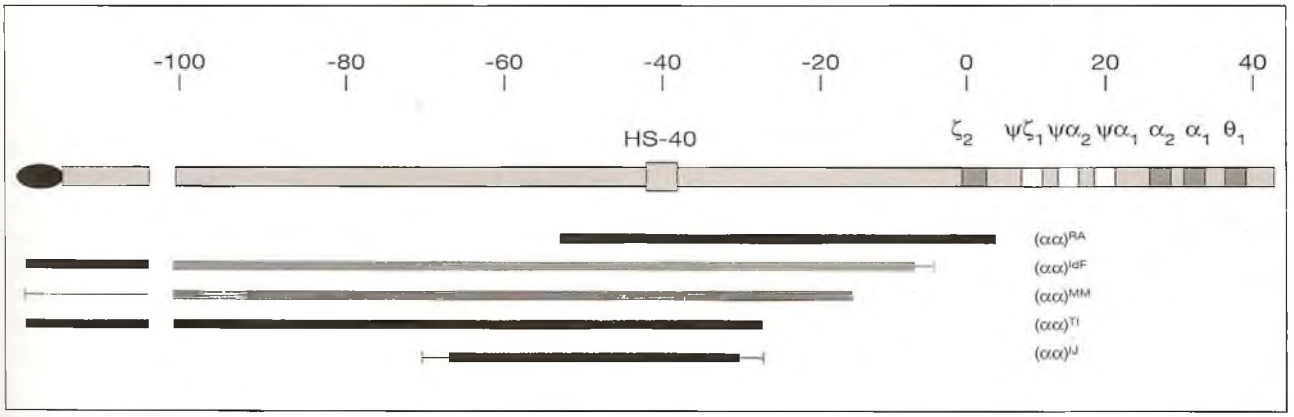


Figura 10.6. Deleciones responsables de α^0-talasemia, que eliminan la región reguladora (HS-40) dejando intactos los dos genes α-globina. En la *parte superior* está esquematizado el cluster α-globina y la ubicación de la región HS-40. En la *parte inferior*, la longitud de las diferentes deleciones. En *gris* están representadas dos deleciones encontradas en el Mediterráneo. Las *barras más finas* de los extremos indican los posibles puntos de rotura de la deleción.

TABLA 10.2

Mecanismo molecular de la α-talasemia no delecional y algunos ejemplos de mutaciones más frecuentes

Alteración	Gen	Secuencia	Mutación	Distribución geográfica
Maduración RNAm	α_2	IVS I donor site	GGTGAGG → GG——-	Mediterráneo
	α_1	IVS I-117	AGGAT → AAGAT	India
	α_2	Poli (A)	AATAAA → AATGAA	Mediterráneo
	α_2	Poli (A)	AATAAA → AATA—	India
	α_2*	Poli (A)	AATAAA → AATAAG	Mediterráneo, Oriente Medio
Transcripción del RNAm				
	α_2	Codón iniciación	ATG → ACG	Mediterráneo
	α_1	Codón iniciación	ATG → GTG	Mediterráneo
	$-\alpha$	Codón iniciación	ATG → GTG	Raza negra
	$-\alpha^{3.7II}$	Codón iniciación	CCACCATG → CC—CATG	Mediterráneo, África
	α_2	Exón 3	α116 GAG → TAG	Raza negra
	α_2	Codón terminación	α142 TAA → CAA	Sudeste asiático
Hb Constant Spring	α_2	Codón terminación	α142 TAA → AAA	Mediterráneo
Hb Icaria	α_2	Codón terminación	α142 TAA → TCA	India
Hb Koya Dora	α_2	Codón terminación	α142 TAA → CAA	Raza negra
Hb Seal Rock	$-\alpha$	Exón 1	α30/31 GAGAGG → GAG—G	Raza negra

*Esta mutación se ha identificado en los dos genes α_2-globina de un cromosoma portador de la triplicación $\alpha\alpha\alpha^{anti\ 3.7}$ en individuos de Arabia Saudita.

2. *Defectos de traducción.* Se han descrito varias mutaciones que alteran la traducción del RNAm, tres de ellas (puntuales) que anulan el codón de iniciación (ATG) y otra (deleción de 2 pb) que modifica la secuencia consenso adyacente a la señal de iniciación y reduce la traducción en el 30-50%. De ellas, la más frecuente en la población mediterránea es la que afecta el codón de iniciación del gen α_2-globina (ATG → ACG), y puede ser detectada directamente mediante PCR, ya que elimina una diana de restricción para la enzima *Nco* I ($\alpha^{Nco}\alpha$). Otras mutaciones que producen el cese prematuro de la traducción son las mutaciones sin sentido (*non sense mutations*) con ausencia de síntesis de globina (GAG → UAG) y las mutaciones con desviación del patrón de lectura (*frameshift mutation*) con aparición de moléculas de globina inutilizables para la síntesis de hemoglobina. Finalmente, existe un grupo de mutaciones situadas en el codón de terminación (TAA) que anulan la señal de cese de la traducción del RNAm, con lo que éste no se produce hasta que aparece otra señal en la región 3' dando lugar a un alargamiento de la cadena α-globina. Ejemplos de este tipo de mutación son las hemoglobinas Hb Constant Spring (CS), Hb Icaria, Hb Koya Dora y Hb Seal Rock, entre otras. Este tipo de variantes se caracterizan también por una disminución de la estabilidad del RNAm, por lo que, en los reticulocitos de estos pacientes no se detecta síntesis de cadena α-globina procedente del alelo mutado, a pesar de que tales cadenas parecen ser estables y capaces de formar tetrámeros de Hb. Por ello, estas mutaciones, junto con el defecto estructural (alargamiento de la cadena de globina), van acompañadas de una disminución de síntesis de cadenas α de globina y fenotipo de α-Talasemia (*hemoglobinopatías talasémicas*). En nuestro medio, se han descrito dos hemoglobinopatías con inestabilidad de cadenas α-globina y fenotipo α^+-Talasemia: Hb Lleida (deleción de 12 pb en el exón 3 del gen α_2) y Hb Clínic (deleción de 3 pb en el exón 2 del gen α_1 globina).

β-Talasemia

El mecanismo molecular de la β-Talasemia es predominantemente no delecional, es decir, sustituciones de una única base nitrogenada (mutación puntual) o deleciones muy cortas que alteran la transcripción o la maduración del RNAm, disminuyendo o impidiendo su traducción normal[1,6]. Las pocas formas delecionales descritas se limitan a determinadas zonas geográficas, y han tenido muy poca expansión. Recientemente, se han descrito también mutaciones fuera del cluster beta, causantes de β-Talasemia y en las que se ha implicado el efecto *trans* de factores reguladores, como el llamado factor regulador general de la transcripción (TF11H) y el factor regulador específico de la transcripción eritroide (GATA 1).

Mutaciones puntuales

Son debidas a sustituciones de una o varias bases nitrogenadas en regiones del gen β-globina o próximas a ellas, que intervienen en el proceso regulador de la transcripción.

En la actualidad, se conocen más de 200 mutaciones causantes de β-Talasemia que, de acuerdo con su efecto sobre el RNAm se clasifican en tres grandes grupos: *a*) defectos de transcripción; *b*) defectos de procesamiento o maduración; *c*) defectos de poliadenilación, y *d*) mutaciones de la región CAP y deleciones (tabla 10.3).

Defectos de transcripción. Son mutaciones situadas en la región promotora del gen β-globina, y pueden afectar a las secuencias conservadoras de DNA o a las situadas cerca de las regiones CAP y no traductora (UTR) del extremo 5' del gen. Las mutaciones de la región CAP (*cap site mutations*) alteran la etapa *capping* de la transcripción del RNAm, y junto con una disminución de la misma, dan lugar a moléculas de RNAm inestables, de las que sólo se traducen el 10-25% (β^+-Talasemia). Las mutaciones de la región 5'UTR apenas disminuyen la síntesis de globina y, en estado heterocigoto, pueden pasar desapercibidas, ya que no van acompañadas de microcitosis ni aumento de HbA2 (β-Talasemia silente). Entre éstas destaca la sustitución −101 C → T situada en el fragmento CACCC de la región promotora, y considerada como la causa más frecuente de talasemia silente en la población del área mediterránea. Otras mutaciones causantes de defectos en la transcripción del RNAm son la CAP +1 A → C y otras recientemente descritas en esta misma región y en la 5'UTR. Al igual que las otras mutaciones de este grupo, los portadores heterocigotos de las mismas son totalmente asintomáticos, y sólo los homocigotos cursan con un rasgo talasémico (β^+-Talasemia sin anemia).

Defectos de maduración. Los fragmentos de RNAm transcritos de las regiones no codificadoras o intrones (*intervening sequences* o IVS) deben ser eliminados mediante un proceso denominado *splicing* (procesamiento o maduración del RNAm). Este proceso es imprescindible para que el RNAm pueda ser leído por los ribosomas y traducido en cadena de globina. Una alteración en la maduración del RNAm da lugar a una disminución o cese en la traducción y, por tanto, en la síntesis de cadenas β-globina. Se han descrito numerosas mutaciones que producen defectos en la maduración del RNAm.

Mutaciones que anulan el proceso de escisión (*splice junction mutations*). Estas mutaciones se sitúan en las regiones de contacto entre exones e intrones, como las existentes entre el exón 1 y el intrón IVS-1 (exón 1-IVS-1) y el exón 2 y el intrón IVS-2 (exón 2-IVS-2), alterando los dinucleótidos «dadores» (5'GT) o «aceptores» (3'AG). Debido a ello, se bloquea la escisión de las secuencias intrónicas (*intervening sequences*) y un cese total de la traducción del RNAm (β^0-Talasemia). Una variante de este tipo de mutaciones son las situadas en las secuencias de consenso (*consensus sequences mutations*) adyacentes a las regiones de contacto entre intrones y exones. A diferencia de las anteriores, estas mutaciones disminuyen la eficacia de la maduración y producen una disminución de síntesis de cadenas de β-globina sin anularla (β^+-Talasemia).

Mutaciones que crean nuevas señales de escisión (*mutations creating new splice signals*). Son sustitucio-

TABLA 10.3

Mecanismos moleculares de la β-talasemia

	Mutación	Región	Clínica
1. DEFECTOS DE TRANSCRIPCIÓN DEL RNAm			
1.1. Mutaciones de la región CAP	+1 (A → C)	India	β^+
1.2. Mutaciones de la región promotora	–101 (C → T)	Mediterráneo	β^+
	92 (C → T)	Mediterráneo	β^+
	30 (T → A)	Turquía	β^+
	87 (C → G)	Mediterráneo	β^+
2. DEFECTOS DE MADURACIÓN DEL RNAm			
2.1. Mutaciones que anulan el proceso de escisión (*splice-junction mutations*)			
	IVS-1 p1 (G → A)	Mediterráneo	β^0
	IVS-2 p1 (G → A)	Mediterráneo	β^0
	IVS-1 p2 (T → G)	Túnez	β^0
	IVS-1 t3 (G → C)	Italia	β^0
2.2. Mutaciones que crean nuevas señales de escisión (*mutations creating new splicing signals*)			
	IVS-1 p110 (G → A)	Mediterráneo	β^+
	IVS-1 p116 (T → A)	Mediterráneo	β^0
	IVS-2 p745 (C → G)	Mediterráneo	β^+
	IVS-1 p5 (G → T)	Mediterráneo	β^+
	IVS-1 p5 (G → C)	Asia	β^+
2.3. Mutaciones que activan señales de escisión crípticas (*enhanced cryptic splice site mutations*)			
	Codón 27 (G → T)	Mediterráneo	Hb Knossos
	Codón 26 (G → A)	Europa, Asia	HbE
	Codón 24 (T → A)	Raza negra	β^+
2.4. Mutaciones de la región de poliadenilación (Poli-A)			
	AATAAAA-AATGAA	Mediterráneo	β^+
	AATAAA-AACAAA	Raza negra	β^+
3. DEFECTOS DE TRADUCCIÓN DEL RNAm			
3.1. Mutaciones sin sentido (*nonsense mutations*)			
	Codón 39 (C → T)	Mediterráneo	β^0
	Codón 121 (G → T)	Centro Europa	β^0
	Codón 17 (A → T)	China	β^0
3.2. Mutaciones con desviación del patrón de lectura (*frameshift mutations*)			
	Codón 8 (–AA)	Turquía	β^0
	Codón 6 (–A)	Mediterráneo	β^0
	Codón 94 (+TG)	Italia	β^0
3.3. Mutaciones del codón de iniciación			
	ATG → AGG	China	β^0
	ATG → ACG	Centro Europa	β^0
4. DELECIONES			
4.1. De la totalidad del gen beta		Holanda	β^0
4.2. Del extremo 3′	–619 pb	India	β^0

nes de bases nitrogenadas que aparecen en el interior de los intrones (IVS) sin afectar a las secuencias de consenso, y cuya consecuencia es una maduración anómala del RNAm. Un ejemplo de este tipo de mutaciones es la 110 G → A del IVS-1, presente en el 40-60% de casos de β-talasemia en el litoral mediterraneo, y que da lugar a un defecto en la escisión por el que sólo una pequeña proporción del RNAm puede llegar a traducirse normalmente (β^+-talasemia con anemia moderada o intensa). Otras mutaciones dan lugar a la aparición de secuencias crípticas de escisión del RNAm no expresadas habitualmente y que, al hacerse evidentes, compiten con las normales. Un ejemplo de este tipo de mutaciones son las situadas en las posiciones 654, 705 y 745 del intrón IVS-2 que, al activar una señal críptica de escisión tienen como consecuencia una maduración anómala del RNAm que, al competir con el proceso normal da lugar a una importante variabilidad en la expresividad fenotípica del gen beta (desde β^+ a β^0-talasemia).

Mutaciones que activan señales de escisión crípticas (*enhanced cryptic splice sites mutations*). Son mutaciones situadas en el exón 1, que dan lugar a una activación de secuencias escondidas (crípticas) que de esta forma actúan como dinucleótidos dadores capaces de alterar la escisión del RNAm. Ejemplo de ello son las mutaciones de los codones 24 T → A, 26 G → A y 27 G → T. Mientras que la primera carece de expresividad, las

dos restantes van acompañadas de una alteración estructural de la cadena β de globina (β^E y β^{Knosos}, respectivamente). Por ello, las hemoglobinas HbE y Hb Knossos constituyen et típico ejemplo de *hemoglobinopatías talasémicas*, ya que la alteración estructural va acompañada de una disminución moderada de síntesis de cadenas β de globina (β^+-talasemia).

Mutaciones de la región de poliadenilación (*RNA cleavage defect mutations*). Se hallan situadas al final del exón 3 donde reside la llamada región de poliadenilación o poli-A (AATAAA) y eliminan uno de los puntos de escisión normal del RNAm. La consecuencia es un alargamiento de la molécula de RNAm, que resulta inestable pero parcialmente traducible (β^+-talasemia).

Defectos de traducción. Obedecen a mutaciones situadas en los codones de iniciación o terminación de la traducción del RNAm. Debido a ello, la transcripción del RNAm se realiza normalmente pero falla su proceso de traducción. Las mutaciones que afectan el codón de iniciación (ATG) anulan por completo la traducción del RNAm por lo que se las conoce como mutaciones «sin sentido» (*nonsense mutations*). La mutación sin sentido más frecuente en el área mediterránea es la CD 39 (C → T) que en España se observa en el 50% de β-talasemias[6]. Otras mutaciones, pequeñas deleciones, o inserciones pueden producir una desviación del patrón de lectura (*frameshift mutations*) con aparición prematura de un codón de terminación. En este caso, se produce el cese prematuro de la síntesis de β-globina (β^0-talasemia). Las mutaciones que introducen un codón de terminación cerca del inicio de la secuencia (exones 1 y 2) van acompañadas de un RNAm inestable, con desaparición rápida del mismo poco después de su transcripción (*nonsense-mediated mRNA decay* o *NMD*). Por el contrario, cuando la mutación introduce un codón de terminación próximo al final de la transcripción (exón 3), la cantidad de RNAm transcrito es normal, pero condiciona la síntesis de cadenas de globina muy inestables, que se degradan inmediatamente. Por ello, su concentración intraeritrocitaria suele ser tan pequeña que sólo pueden detectarse en estado homocigoto y con procedimientos especiales. En algunos casos, estas variantes dan lugar a un rasgo talasémico como única manifestación clínica, mientras que en otros, pueden acompañarse de un síndrome hemolítico[1,6].

Deleciones e inserciones

A diferencia de lo que sucede en la α-talasemia, en la β-talasemia las deleciones son mucho menos frecuentes pero todas ellas se acompañan de una ausencia total de síntesis de globina (β^0-talasemias). Existen descritas tres formas de β-talasemia: *a*) deleciones de la región promotora (LCR); *b*) deleciones del gen β-globina, y *c*) inserción del retrotransposón L1 en IVS-2[1,6]. En las deleciones de la región LCR el gen β-globina permanece intacto pero sin actividad funcional y en las deleciones del propio gen éste desaparece por completo pero ambas presentan el mismo fenotipo de β^0-talasemia. La β-talasemia delecional mejor conocida es la de 618 pb, que se extiende desde el segundo intrón (IVS-2) hasta el extremo 3′ del gen β, y se halla restringida a individuos de origen indio o paquistaní (β^0-talasemia India). Las deleciones que afectan al extremo 5′ del gen β y a su región promotora se caracterizan por grandes aumentos de HbA_2 (7-9%) y de HbF (10%) en estado heterocigoto, que compensan, en parte, la ausencia total de cadenas β de globina. Se ha descrito también una deleción total y exclusiva del gen β (β^0-talasemia Dutch), aunque es sabido que éste sufre también una deleción total en las diferentes variedades de βδ-talasemia (fig. 10.7). Finalmente, las inserciones tienen escaso interés porque además de ser excepcionales carecen de expresividad clínica.

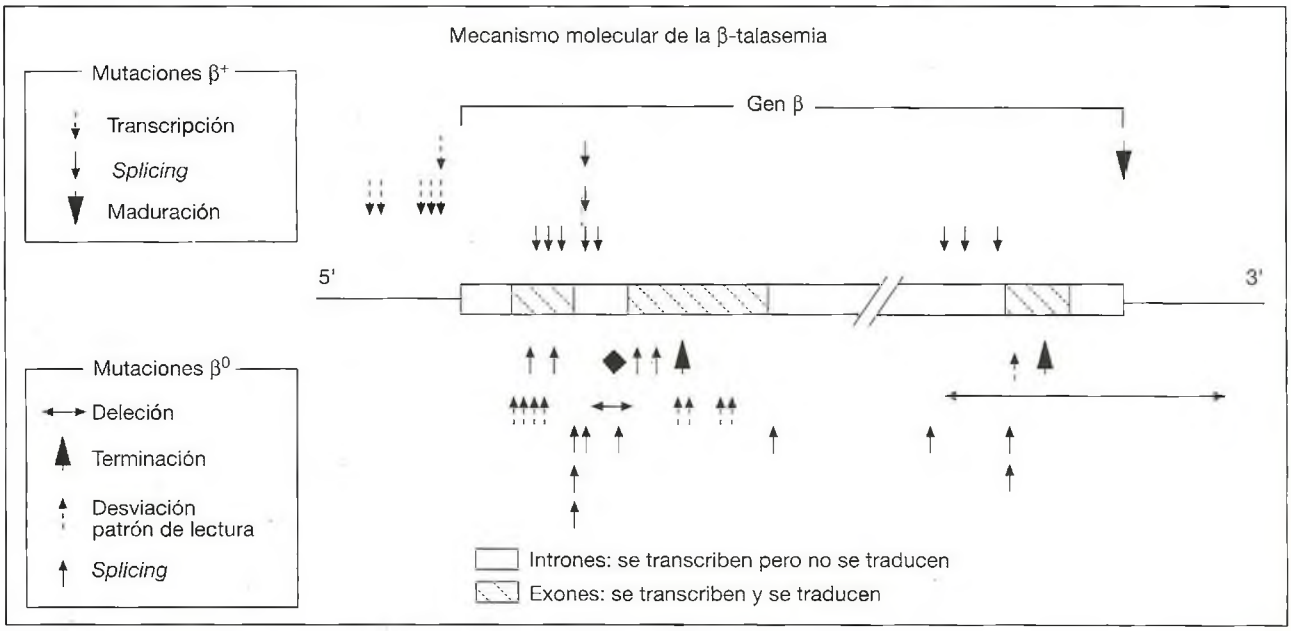


Figura 10.7. Situación de los tipos de mutación más frecuentes a nivel del gen β de globina.

δβ-Talasemia

Las δβ-talasemias se clasifican en $(\delta\beta)^+$ y $(\delta\beta)^0$ talasemias, según el grado de síntesis de las cadenas δ y β por parte del cromosoma afectado. La $(\delta\beta)^+$-talasemia, a su vez, puede clasificarse en dos grupos. El primero de ellos incluye las $(\delta\beta)^-$-talasemias que son el resultado del intercambio de material genético no homólogo con la producción de variantes hemoglobínicas, producto de la fusión de las cadenas δβ, entre las que destaca la Hb Lepore. El segundo grupo obedece a dos mutaciones diferentes que afectan al cluster β-globina, inactivando parcial o completamente el gen δ o β y, además, pueden incluir mutaciones que aumenten la expresión del gen γ-globina, dando lugar a fenotipos muy parecidos a las formas delecionales de $(\delta\beta)^0$-talasemia.

La $(\delta\beta)^0$-talasemia es debida a largas deleciones que implican el cluster β-globina y eliminan los dos genes δ y β, dejando intacto un gen γ o los dos, por lo que se produce una síntesis compensadora de cadenas γ (HbF). Cuando la deleción afecta únicamente a los genes δ y β, la HbF contiene los dos tipos de cadenas γ ($^G\gamma^A\gamma\delta\beta$ talasemia) y cuando, además, elimina el gen $^A\gamma$, sólo contiene cadenas $^G\gamma$ ($^G\gamma\delta\beta$-talasemia). La deleción de todo el complejo ($G_\gamma A_\gamma\delta\beta$-tal) origina la γαβ-talasemia (fig. 10.8). En España, la alteración molecular predominante es una deleción de considerable tamaño denominada $(\delta\beta)^0$-talasemia Spanish, que puede ser detectada mediante PCR, a partir de DNA, utilizando tres cebadores distintos en la misma reacción de PCR. Esta alteración carece de expresividad clínica, aunque puede ir acompañada de cierto grado de microcitosis e hipocromía, y su característica más común es la persistencia de síntesis de HbF durante la vida adulta[17].

Persistencia hereditaria de la hemoglobina fetal (PHHF)

La PHHF constituye, al igual que los síndromes talasémicos anteriormente descritos, un grupo muy heterogéneo de trastornos, cuya característica más común es la persistencia de la síntesis de HbF durante la vida adulta. No obstante, se diferencia fundamentalmente de los síndromes talasémicos en que carece de expresividad clínica, ya que el aumento de cadenas γ permite compensar el desequilibrio creado por el exceso de cadenas α[18]. El conocimiento de esta forma de talasemia se ha beneficiado con el empleo de la biología molecular, que ha demostrado la estrecha relación existente entre la PHHF y la δβ-talasemia. Existen dos grandes formas de PHHF: delecional y no delecional. La forma delecional se caracteriza por un aumento simultáneo de ambas cadenas γ de globina (Aγ y Gγ), y la no delecional, por el aumento exclusivo de una de ellas (Aγ o Gγ). La PHHF delecional es especialmente frecuente en la raza negra de EE.UU. (PHHF-1) y de Ghana (PHHHF-2). También se han descrito formas de PHHF en India e Italia, que obedecen a deleciones más cortas que las observadas en la raza negra. Dado que todas estas deleciones afectan en mayor o menor grado a la región 3′ del cluster β próxima a la región de los genes γ, ello podría explicar la activación de ambos en este defecto genético. A diferencia de las formas delecionales, las no delecionales afectan a poblaciones y razas mucho más diversas, y se

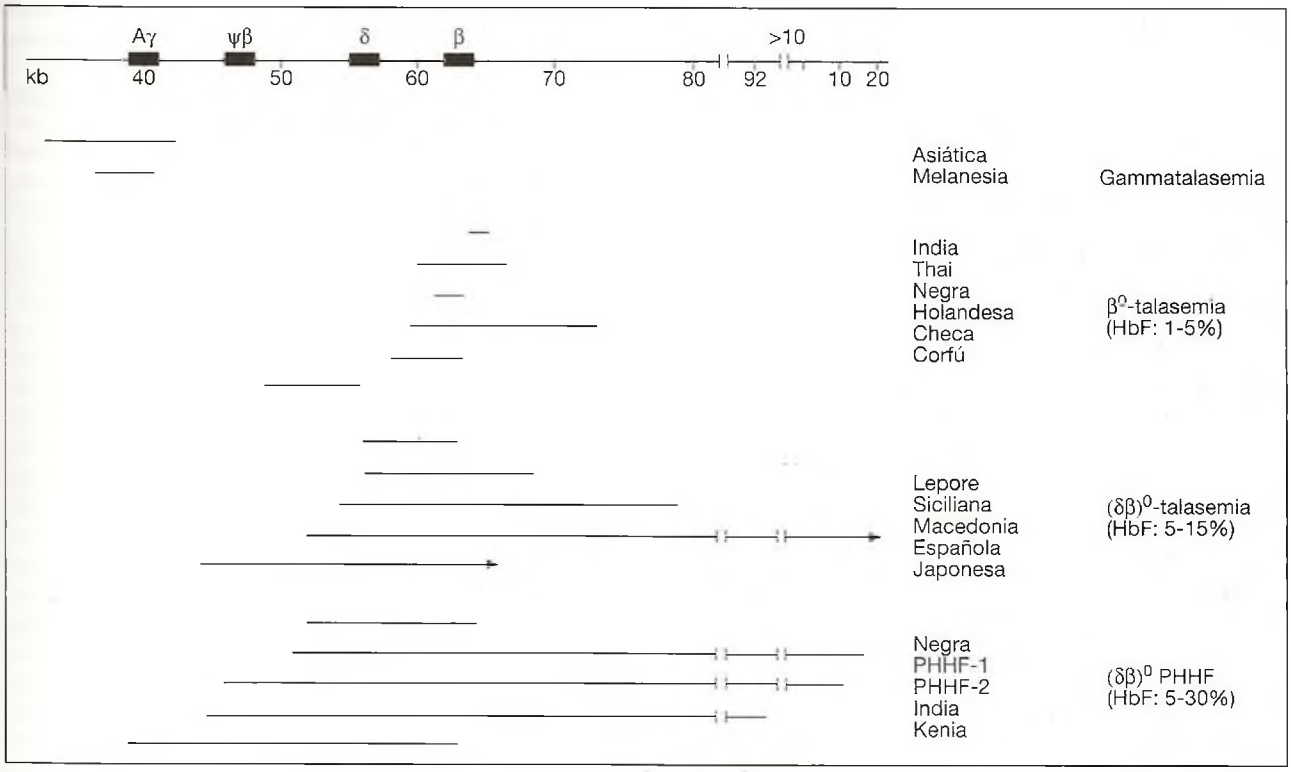


Figura 10.8. Algunas de las deleciones más frecuentes descritas en el cluster β. Deleciones de la β^0 $(\delta\beta)^0$-talasemia y persistencia hereditaria de hemoglobina fetal (PHHF).

han observado tanto en el área mediterránea (Italia y Grecia, principalmente) como en el norte de Europa (PHHF Británica), China, Japón y en negros americanos. La gran mayoría de estas formas no delecionales de PHHF obedece a mutaciones en las regiones promotoras situadas en posición 5' con respecto a los genes Aγ y Gγ. En general, estas mutaciones modifican la expresión del gen Aγ o Gγ, según su localización en la correspondiente región promotora.

Hemoglobinopatías talasémicas

Existen mutaciones de los genes de globina que, además de producir una disminución de la síntesis de cadenas globínicas, son responsables de alteraciones estructurales, dando lugar a variantes moleculares de hemoglobina asociadas con un fenotipo talasémico o *hemoglobinopatías talasémicas*[1,6]. Entre ellas destacan como más frecuentes la HbE, la Hb Lepore, hemoglobinopatías con alargamiento de la cadena de globina y hemoglobinopatías con cadenas de globina muy inestables.

Hemoglobina E (HbE). La HbE es el resultado de la sustitución del ácido glutámico (Glu) en posición 26 por la lisina (Lys) en la cadena β. Esta mutación activa una región de escisión (*splicing*) críptica que se manifiesta por un defecto en la maduración del RNAm y disminución de la síntesis de cadenas de β-globina. Se trata de una hemoglobinopatía prácticamente limitada a ciertas poblaciones del sudeste asiático, y su expresividad clínica es superponible a la de la β-talasemia menor: los heterocigotos sólo presentan microcitosis y los homocigotos se caracterizan por un mayor grado de microcitosis, y una ligera anemia apenas perceptible. Cuando la HbE se asocia con un gen β-talasémico (β^E/β^+ o β^0) la expresividad clínica es la de una β-talasemia intermedia.

Hemoglobina Lepore (Hb Lepore). En la Hb Lepore existe un entrecruzamiento no homólogo (*crossing-over*) con intercambio de material genético y formación de un gen híbrido δβ. Este gen codifica una cadena globínica híbrida cuya secuencia está constituida por un fragmento (50-80 aminoácidos) de cadena δ y un fragmento (60 a 90 aminoácidos) de cadena β, ambos normales. Debido a ello, además del cromosoma Lepore en el que el gen β ha sido sustituido por el híbrido δβ, se forma un cromosoma anti-Lepore en el que el gen híbrido coexiste con los genes δ y β normales (fig. 10.9). Dado que el entrecruzamiento de genes puede producirse en diferentes lugares, existen varios tipos de Hb Lepore (Boston, Baltimore y Hollandia) que se diferencian por la longitud de los fragmentos δ y β que forman la cadena híbrida δβ. La variante más frecuente es la Hb Lepore Boston, cuya incidencia parece ser especialmente elevada en determinadas áreas geográficas de Italia y centro de Europa. El gen híbrido δβ presenta una síntesis reducida de cadenas, por lo que el comportamiento clínico de la Hb Lepore es superponible al de una β-talasemia. Así, el estado heterocigoto se comporta como una β-talasemia menor (seudopoliglobulia microcítica), pero sin aumento de la HbA_2 ni de la HbF. La electroforesis de hemoglobinas muestra una fracción lenta de Hb Lepore (5-12% del total de Hb) que migra en la región de la HbS. El estado

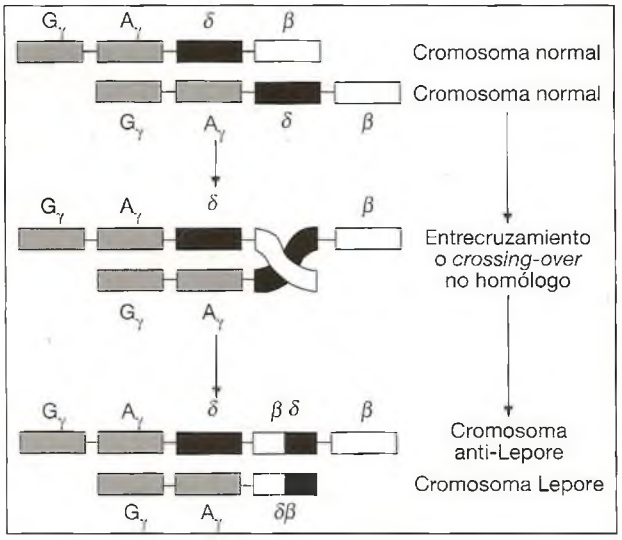


Figura 10.9. Entrecruzamiento cromosómico con intercambio de material genético (*crossing-over*) en el mecanismo molecular de la Hb Lepore.

homocigoto suele presentar las características clínicas de una talasemia mayor. El diagnóstico requiere la práctica de una electroforesis de hemoglobinas que muestra dos fracciones, una intensa de HbF (> 80% del total) y otra débil o Hb Lepore (aproximadamente, el 20% del total) con total ausencia de HbA y HbA_2. El estudio familiar mostrará la presencia de Hb Lepore heterocigota en ambos padres.

Alargamiento de la cadena normal de globina. Las mutaciones con alargamiento de una cadena normal de globina obedecen en su mayoría a la desaparición del codón de terminación (UAA, UAG, UGA). Debido a ello, en el proceso de traducción, la cadena de globina continúa hasta hallar otro codón terminal, lo que supone un alargamiento de la cadena. Un ejemplo de mutación del codón terminal en la región α es la Hb Constant Spring (HbCS), y en la región β, la Hb Tak.

Síntesis de cadenas globínicas muy inestables. Algunas mutaciones de los genes α o β tienen como consecuencia un defecto en la traducción del RNAm, por el cual se produce la síntesis de cadenas globínicas muy inestables. En la mayoría de este tipo de variantes el nivel de RNAm alterado es normal, pero las cadenas de globina, resultado de su traducción, son muy inestables y se degradan con gran rapidez, a no ser que sean incorporadas inmediatamente al tetrámero de Hb, con lo que adquieren mayor estabilidad. No obstante, su concentración intraeritrocitaria suele ser tan pequeña que sólo pueden ser detectadas en estado homocigoto. En algunos casos, estas variantes dan lugar a un rasgo talasémico como única manifestación clínica, mientras que en otros pueden ir acompañadas de un síndrome hemolítico. La mayoría de estas variantes inestables provocan modificaciones estructurales en la parte de la molécula de Hb implicada en los contactos α_1-β_1, necesarios para la unión de las diferentes cadenas globínicas. Los ejemplos mejor conocidos de mutaciones en el gen β son las

hemoglobinopatías: Hbs Showa-Yakushiji, Houston y Geneva, y en los genes α_1 o α_2 globina, las hemoglobinopatías Quong Sze (α125 Leu → Pro), Suan Dok, Petah Tikvah y Evanston. En nuestro medio, se han descrito dos hemoglobinopatías con inestabilidad de cadenas α-globina y fenotipo α^+-talasemia: Hb Lleida (deleción de 12 pb en el exón 3 del gen α_2) y Hb Clínic (deleción de 3 pb en el exón 2 del gen α_1 globina).

MANIFESTACIONES CLÍNICAS Y DIAGNÓSTICO

α-Talasemia

En general, la gravedad de las distintas formas de α-talasemia está relacionada con la intensidad del déficit de la cadena α-globina que, a su vez, depende de la naturaleza de la mutación. Potencialmente, existen cientos de mutaciones que pueden dar lugar a distintas formas de α-talasemia. La interacción de estas mutaciones en un mismo individuo (alelos) genera una gran variabilidad fenotípica, cuya expresividad clínica puede oscilar desde una práctica ausencia de sintomatología hasta ser incompatible con la vida (tabla 10.4). Clínicamente, las α-talasemias pueden dividirse en tres categorías: 1) *rasgo talasémico*, caracterizado por ligeros cambios hematológicos, pero sin mayor expresividad clínica; 2) *enfermedad de la HbH o hemoglobinopatía H*, y 3) *síndrome de hidropesía fetal* (tabla 10.5). En la mayoría de los casos, la confirmación diagnóstica de la α-talasemia únicamente puede realizarse mediante el análisis del DNA que permite identificar la naturaleza exacta de la alteración genética. El desarrollo y la aplicación de nuevas metodologías en el ámbito de la biología molecular, particularmente las basadas en la técnica de la PCR, ofrece la posibilidad de realizar un escrutinio de las formas más frecuentes de α-talasemia en nuestro medio[19].

TABLA 10.4

Interacciones entre las distintas formas de α-talasemia y su expresividad fenotípica

	Haplotipos	$\alpha\alpha$	$\alpha\alpha^T$	α^+ -α	$\alpha^T\alpha$	-α^T	α^0 - -
α^0	- -	R	H	H	H, B	No	B
α^+	-α^T	R	No	H	R	H	
	$\alpha^T\alpha$	R	No	R	R, H		
	-α	R	No	R			
	$\alpha\alpha^T$	R	No				
	$\alpha\alpha$	N					

Expresividad fenotípica:
N: normal; R: rasgo talasémico; H: enfermedad de la HbH;
B: anasarca fetoplacentaria; No: no observado.

Rasgo talasémico

Normalmente, es el resultado de la interacción entre un haplotipo normal ($\alpha\alpha$) y un defecto causante de α^0 o α^+-talasemia. También puede producirse en algunos individuos homocigotos o doble heterocigotos para distintas formas de α-talasemia no delecional (-α/-α, -α/$\alpha^T\alpha$ y $\alpha^T\alpha/\alpha^T\alpha$). Las principales magnitudes hematológicas discriminantes del rasgo talasémico son el volumen corpuscular medio (VCM) y la Hb corpuscular media (HCM), aunque debido a la frecuente coexistencia de otras causas que también pueden alterarlas, su valor diagnóstico es muy limitado. Incluso la determinación de la síntesis *in vitro* de cadenas globina (relación α/β) en los portadores de α-talasemia, tampoco consti-

TABLA 10.5

Formas clínicas de α-talasemia

Forma clínica	Genotipo	Fenotipo
1. RASGO TALASÉMICO		
α^+-TALASEMIA	-α/$\alpha\alpha$ α/$\alpha\alpha^T$	RASGO SILENTE $\alpha/\beta = 1$ Hb Bart 2-10% en recién nacidos
α^0-TALASEMIA	--/$\alpha\alpha$ -α/-α -α/$\alpha\alpha^T$	TALASEMIA MENOR $\alpha/\beta < 1$ Hb Bart: 2-10% en recién nacidos
2. HEMOGLOBINOPATÍA H	--/-α --/$\alpha\alpha^T$ --/$\alpha^{CS}\alpha$ $\alpha\alpha^T/\alpha\alpha^T$	TALASEMIA INTERMEDIA $\alpha/\beta < 1$ Hb Bart: 20-40% en recién nacidos HbH: 5-40% en adultos Hb Constant-Spring
3. HIDROPESÍA FETAL	--/--	ANASARCA FETOPLACENTARIA Hb Bart = 80-90% HbH = trazas Hb Portland

α^T: talasemia no delecional.

tuye una clara indicación del genotipo. Debido a la gran heterogeneidad genotípica, el rasgo talasémico incluye un amplio espectro de fenotipos, desde formas totalmente asintomáticas, hasta las que cursan con una discreta anemia microcítica e hipocroma. Por tanto, según la expresividad clínica del rasgo talasémico, puede establecerse la siguiente clasificación (tabla 10.6):

Rasgo silente (α^+-talasemia). Constituye una condición clínicamente asintomática y detectable sólo a través de estudios familiares. En general, suele observarse una disminución muy ligera del VCM, pero el patrón electroforético de hemoglobinas es normal, aunque en los recién nacidos puede observarse, a veces, el 1-2% de Hb Bart. En cualquier caso, la confirmación diagnóstica requiere la determinación *in vitro* de la relación α/β (< 1)[20] o un análisis del DNA. El rasgo silente de α-talasemia obedece al defecto de un único gen α, como resultado de una deleción (-α/αα) o de una mutación puntual ($\alpha^T\alpha/\alpha\alpha$ o $\alpha\alpha^T/\alpha\alpha$) en estado heterocigoto. En determinados casos, como los individuos heterocigotos para la Hb Constant Spring ($\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$), es posible observar, mediante métodos electroforéticos muy sensibles, entre el 0,1 y el 1,5% de la variante hemoglobínica (HbCS).

α-Talasemia menor (α^0-talasemia). Se caracteriza por una discreta anemia microcítica e hipocroma (disminución del VCM, HCM y CCMH) y afecta preferentemente a individuos del área mediterránea, Asia y África. En los adultos, el patrón electroforético es normal, aunque en ocasiones puede detectarse una disminución de la HbA_2 (1,5-2,5%), pero en los neonatos puede observarse el 10% de Hb Bart, que no es reemplazada por cantidades detectables electroforéticamente de HbH en el estado adulto. En determinados casos, la incubación de los eritrocitos con azul de cresilo brillante pone de manifiesto la presencia de precipitados intraeritrocitarios (fig. 10.9). La determinación de la síntesis *in vitro* de cadenas globina muestra siempre una disminución de la relación α/β (< 1). Genotípicamente, esta condición corresponde a la alteración de dos genes α y puede obedecer a tres mecanismos: 1) deleción de dos genes α de un mismo cromosoma en estado heterocigoto (-/αα); 2) deleción de un gen α en estado homocigoto (-α/-α), y 3) mutación puntual en estado homocigoto ($\alpha^T\alpha/\alpha^T\alpha$ o $\alpha\alpha^T/\alpha\alpha^T$). También se incluyen dentro de este grupo los sujetos doble heterocigotos para formas delecionales y no delecionales de α-talasemia como, por ejemplo, el genotipo $-\alpha/\alpha^{TSaudi}\alpha$. Algunos individuos doble heterocigotos u homocigotos para determinadas formas de α-talasemia no delecional presentan un déficit más intenso de cadenas α-globina, por lo que su expresividad clínica es mayor, y pueden mostrar un fenotipo típico de hemoglobinopatía H. Este es el caso de pacientes homocigotos para determinadas mutaciones que afectan al gen α_2-globina, como la Hb Constant-Spring ($\alpha^{CS}\alpha/\alpha^{CS}\alpha$), una mutación en la señal de poli (A) AATAAG o una mutación en el codón de iniciación. Es interesante señalar que la inactivación de los genes α-globina mediante mutaciones puntuales genera un déficit de cadenas α-globina mucho mayor que si los mismos genes estuvieran delecionados.

Hemoglobinopatía H (HbH)

Aunque descrita por primera vez en una familia china, y posteriormente en individuos de origen griego, se ha demostrado que la hemoglobinopatía H es particularmente frecuente en la región mediterránea (especialmente, en las islas) y en el sudeste asiático, donde se ha estimado que cada año nacen unos 14.000 niños afectados de HbH y cuya media de supervivencia es de, aproximadamente, 50 años[6]. En España, la HbH se observó por primera vez en el año 1966, pero a lo largo de los años se ha observado que ocurre de forma esporádica, y su incidencia en la población española es muy escasa[20,21]. En su forma más típica, la hemoglobinopatía H obedece a la pérdida de tres genes α-globina, como resultado de la interacción entre α^+ y α^0-talasemia (-α/—). También puede obedecer a la herencia de dos formas graves de α^+-talasemia ($\alpha^T\alpha/\alpha^T\alpha$ o $-\alpha^T/-\alpha^T$). En cualquier caso, el déficit de cadenas α-globina es tan acusado que genera un exceso de cadenas β suficiente para formar tetrámeros β_4 y, así, dar lugar a la aparición

TABLA 10.6

Fenotipos de α-talasemia

	N.º genes α funcionales	Hb Bart (%)[a]	HbH (%) (inclusiones)	VCM (fL)	HCM (pg)	α/β[b]	Interacción haplotipos
α^+-talasemia	3	0-2	0	80 ± 5	26 ± 2	~0,8	$\alpha^{\pm}/\alpha$
α^0-talasemia	2	2-8	Ocasionales	70 ± 5	22 ± 2	~0,6	α^0/α α^+/α^+
HbH[c]	1	10-40	2-40	60 ± 5	19 ± 2	~0,3	α^0/α^+ α^+/α^+
Hidrops fetalis[d]	0	~80	Presentes siempre	115 ± 5	Reducida	0,0	α^0/α^0
Normal	4	0	0	90 ± 5	30 ± 2	~1,0	α/α

[a]Niveles de Hb Bart en el recién nacido.
[b]Relación de la síntesis *in vitro* de cadenas α/β globina.
[c]Hemoglobinopatía H.
[d]Síndrome de hidropesía fetal por Hb Bart.
(Según Weatherall et al, 1995).

de HbH. Las principales manifestaciones clínicas de la hemoglobinopatía H son anemia intensa o moderada (26 a 124 g/L), acompañada de microcitosis e hipocromía, ictericia y hepatoesplenomegalia. La electroforesis de hemoglobinas a pH alcalino muestra la presencia de una fracción de migración rápida correspondiente a la HbH (2-40%) y, en ocasiones, de Hb Bart. La gran inestabilidad de ambas formas de hemoglobina anómala hace que muchas veces no puedan ser detectadas con los procedimientos de análisis convencionales. Con todo, la incubación de eritrocitos en presencia de azul de cresil brillante demuestra en casi todos los casos la presencia de precipitados hemoglobínicos o cuerpos de Heinz (fig. 10.10).

La hemólisis es aquí el principal mecanismo fisiopatológico de la anemia, y su importancia es superior a la eritropoyesis. Probablemente, la complicación más frecuente de la hemoglobinopatía H es la esplenomegalia con hiperesplenismo, mientras que otras complicaciones incluyen infecciones, úlceras en las extremidades inferiores, litiasis biliar, deficiencia de ácido fólico y episodios hemolíticos agudos en respuesta a determinados fármacos. El exceso de hierro es infrecuente, pero se ha observado en pacientes mayores de 45 años o sometidos a repetidas transfusiones[14].

La expresividad clínica de la hemoglobinopatía H se correlaciona con el grado de deficiencia de la cadena α-globina. Por tanto, las interacciones entre formas no delecionales de α-talasemia que afectan al gen α_2 ($\alpha^T\alpha$) tienden a ser más graves que las que afectan al gen α_1 ($\alpha\alpha^T$) o que los haplotipos -α. Los pacientes con el genotipo —/-α^T suelen presentar, en general, un cuadro clínico más intenso, caracterizado por una marcada anemia y niveles de HbH más elevados, que los sujetos con formas delecionales de HbH (—/-α), algunos de los cuales requieren esplenectomía y transfusiones repetidas. Ocasionalmente, neonatos con interacción de formas no delecionales de α^+ y α^0-talasemia también pueden presentar una expresividad clínica más grave, que puede llegar a generar hidropesía fetal (tabla 10.4).

α-Talasemia asociada a retraso mental (ATR)

En 1981 se describieron tres familias procedentes del norte de Europa cuyos hijos presentaban un grave retraso mental asociado a hemoglobinopatía H[23]. En estos casos parecía que el patrón hereditario no seguía las leyes mendelianas, como ocurre en las formas habituales de la hemoglobinopatía H. Aunque en un principio se observó que algunos de estos pacientes presentaban extensas deleciones en la región telomérica del cromosoma 16[24], el hallazgo de nuevos casos de esta asociación (hasta la actualidad se conocen unos 20) permitió demostrar que, en prácticamente todos ellos, existía mutación del gen ATRX situado en el cromosoma X[25-27]. Esta mutación da lugar a la síntesis de la proteína ATRX, un factor de transcripción que, además de ejercer efectos pleiotrópicos durante el desarrollo provocando retraso mental, cuando está mutado es capaz de disminuir la expresión de los genes α-globina. El fenotipo de estos pacientes, que afecta preferentemente a hombres jóvenes, es bastante uniforme, y se caracteriza esencialmente por un intenso retraso mental, rasgos faciales dismórficos, malformaciones urogenitales y un rasgo poco manifiesto de hemoglobinopatía H, que en su conjunto constituyen el síndrome ATR-X (*OMIM catálogo #301040*).

α-Talasemia asociada a síndrome mielodisplásico (síndrome ATMDS)

La existencia de formas de α-talasemia adquirida asociada a mielodisplasia es un hecho que se conoce desde hace ya muchos años. A diferencia del síndrome ATR-X, esta forma de asociación afecta a individuos de edad avanzada que padecen un síndrome mielodisplásico (SMD) y en quienes se ha excluido la presencia de una forma hereditaria de talasemia[28] . Su diagnóstico requiere en todos los casos la demostración de la existencia de HbH mediante electroforesis, cromatografía de alta resolución (HPLC) o tinción de los eritrocitos mediante azul de cresilo brillante (cuerpos de Heinz espontáneos). Hasta la actualidad se han descrito unos 70 casos de síndrome ATMDS (OMIM catálogo #300448) y, excepto un caso con extensa deleción del gen alfa, en la mayoría de ellos se ha demostrado la existencia de mutaciones del gen ATRX[29,30]. Es de señalar que aunque las mutaciones halladas en este síndrome se sitúan en el mismo gen que las del síndrome ATR-X, no existe retraso mental y la expresividad fenotípica de la HbH es mucho más intensa[31].

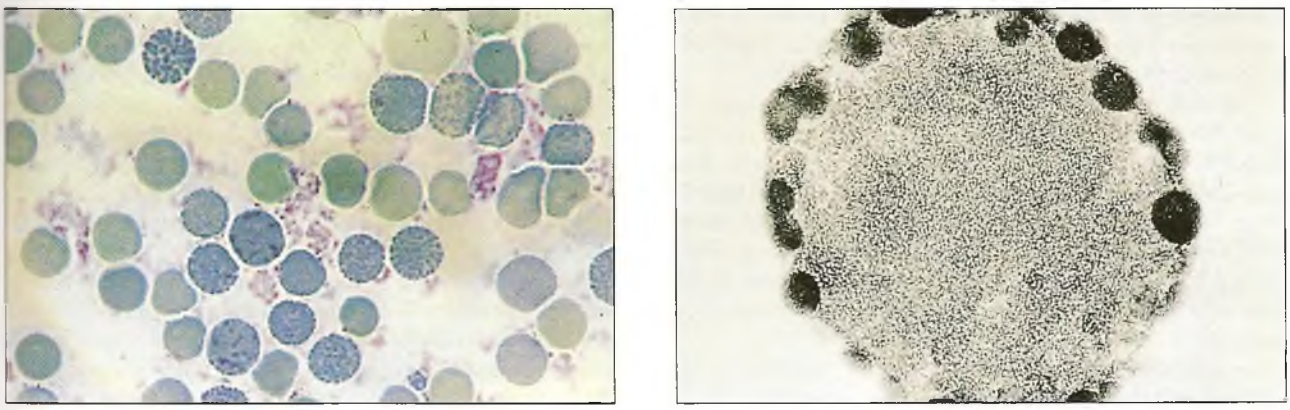


Figura 10.10. Precipitados de HbH en un caso de α^0-talasemia heterocigota después de incubación de los eritrocitos en presencia de azul de cresilo brillante (ACB). *Izquierda*: extensión de sangre en la que se aprecian los precipitados de HbH o cuerpos de Heinz formando una imagen de mórula. *Derecha*: la misma preparación observada mediante microscopio electrónico de transmisión (MET). Precipitados de HbH adheridos a la superficie interna de la membrana eritrocitaria dando lugar a una imagen «en collar».

En el servidor de Higgs puede obtenerse información actualizada sobre este trastorno (www.imm.ox.ac.uk/groups/mrc_molhaem/home_pages/Higgs/index.html).

Hidropesía fetal

Este síndrome obedece, en la mayoría de los casos, a la interacción de dos formas de α^0-talasemia, con la consiguiente pérdida de los cuatro genes α-globina. Como en el caso de la hemoglobinopatía H, esta condición es casi exclusiva de pacientes del sudeste asiático (comúnmente $--^{SEA}/--^{SEA}$) y del mediterráneo ($--^{MED}/--^{MED}$). Se trata de un síndrome incompatible con la vida (*hidrops fetalis*), que produce la muerte fetal a las 30 o 40 semanas de gestación o bien poco después del nacimiento. Excepcionalmente, se han descrito dos casos que nacieron prematuramente (28 y 34 semanas de gestación) y sobrevivieron durante un tiempo con continuas transfusiones sanguíneas. Uno de estos niños presentó un desarrollo aparentemente normal durante el primer año de vida. Clínicamente, la hidropesía fetal se caracteriza por anemia intensa (Hb entre 30 y 100 g/L), marcada palidez y estado edematoso acompañado de signos de insuficiencia cardíaca y de prolongada hipoxia intrauterina. La hepatoesplenomegalia siempre está presente, y a menudo pueden observarse otras alteraciones congénitas asociadas. La observación morfológica de la extensión sanguínea muestra intensa anisopoiquilocitosis, con macrocitosis hipocroma, y presencia de eritroblastos circulantes. La electroforesis de hemoglobina muestra un 80% de Hb Bart y un 20% de HbH y Hb Portland. Normalmente, el síndrome de hidropesía fetal por Hb Bart se asocia con una completa ausencia de cadenas α-globina; sin embargo, se han descrito algunos casos de hidropesía fetal en Grecia y en el sudeste asiático, con niveles muy bajos de cadenas α[30]. Estos casos son el resultado de la interacción de formas comunes de α^0-talasemia con mutaciones no delecionales.

β-Talasemia

La expresividad clínica de la β-talasemia depende, principalmente, de la intensidad del déficit de síntesis de cadenas β que, a su vez, varía según se trate de un carácter homocigoto o heterocigoto. Existen dos formas clínicas de β-talasemia: β^+-talasemia, en la que se puede apreciar una pequeña cantidad de cadenas β-globina y β^0-talasemia en las que éstas son indetectables.

Los individuos homocigotos para el gen β^0-talasemia carecen de cadenas de β-globina y presentan intensa expresividad clínica (enfermedad de Cooley), mientras que los heterocigotos, es decir, con un único gen talasémico, presentan una expresividad clínica variable pero más moderada. La forma más grave de β-talasemia obedece a formas homocigotas o doble heterocigotas en las que la síntesis de cadenas β se halla muy disminuida o ausente.

La intensidad de las manifestaciones clínicas de los síndromes talasémicos depende, en primera instancia, del tipo de mutación implicada, pero también de la existencia de ciertos «factores modificadores» que explican su mayor o menor expresividad clínica[32]. Estos factores pueden ser de diversa índole, y entre ellos destacan la posible coexistencia de mutaciones del gen alfa (alfa-talasemia simple o existencia de duplicaciones del gen alfa con existencia de tres o cuatro genes alfa por cromosoma). Tal asociación es especialmente interesante porque cuando se trata de una β-talasemia y α-talasemia simple se observa una disminución de la expresividad clínica mientras que cuando se trata de genes alfa supernumerarios como, por ejemplo, ααα/ααα o αααα/ααα, una β-talasemia asintomática puede adquirir las características de una forma clínica intermedia[33]. Este hecho obedece a que existe un nivel crítico en el equilibrio alfa/beta que cuando se sobrepasa aparecen las manifestaciones clínicas. Recientemente se ha implicado en este mecanismo la existencia de una proteína reguladora de la estabilidad de cadenas alfa (AHSP) aunque el conocimiento de la misma es aún escaso[34]. Junto a las cadenas alfa otro factor modificador de la expresividad clínica de la β-talasemia es el aumento de síntesis de hemoglobina fetal (HbF). Aunque la HbF se halla frecuentemente aumentada en la β-talasemia, existe un determinante genético presente sólo en ciertos individuos debido al cual el aumento de HbF es más evidente. Ello obedece a la existencia, en el clúster beta, de un polimorfismo conocido con el nombre de Xmm1-G_γ. En muchos otros casos, no obstante, la diferente expresividad clínica de una misma mutación del gen beta no puede atribuirse a factores ligados al aumento de síntesis de HbF ni de cadenas alfa. Un ejemplo de ello es la presencia de una variante polimórfica (siete repeticiones de TA) situada en la región promotora del gen que codifica la enzima uridín difosfato glucuroniltransferasa (UGTIA1), causante de la enfermedad de Gilbert. Este trastorno se caracteriza por un aumento de la fracción indirecta de la bilirrubina no ligada al proceso hemolítico, pero en caso de asociarse a β-talasemia puede aumentar de forma notable el grado de ictericia y la propensión a padecer litiasis biliar. Otro factor que puede complicar el curso clínico de una β-talasemia es la sobrecarga de hierro atribuida al aumento de la absorción de hierro intestinal secundario al aumento de la eritropoyesis. En ocasiones esta sobrecarga puede ser especialmente importante y adoptar el comportamiento clínico de una hemocromatosis. En este caso se ha demostrado que los pacientes afectos de β-talasemia también son portadores de las mutaciones C282Y o H63D del gen HFE causante de la hemocromatosis[35,36]. Otras complicaciones relativamente frecuentes en pacientes con β-talasemia son las alteraciones óseas debidas a osteoporosis y osteopenia, y las debidas a trombofilia o mayor riesgo trombótico. La frecuente asociación de la osteoporosis con la talasemia muy probablemente tiene que ver con alteraciones genéticas de la síntesis del receptor estrogénico, del receptor de la vitamina D (VDR) del colágeno (COL1A1 y COL1A2) o del factor transformador del crecimiento ($TGBb_1$). La existencia de un estado de hipercoagulabilidad en la talasemia constituye uno de los hallazgos recientes de mayor interés clínico, y se ha asociado con alteraciones genéticas del factor V de la coagulación, protrombina y metiltetrahidrofolato-reductasa[38].

Por tanto, el elevado polimorfismo genético y la existencia de los factores modificadores, motivan que la expresividad clínica de la β-talasemia sea polimorfa y

pueda variar desde una situación prácticamente asintomática (talasemia mínima y menor), hasta la de una anemia muy grave con fallecimiento del paciente antes de alcanzar la edad adulta (talasemia mayor), siendo las formas intermedias las que presentan una clínica más polimorfa (talasemia intermedia). El estudio molecular del gen β-globina en los síndromes talasémicos ha mostrado tal número de mutaciones diferentes que su estudio con la idea de establecer una correlación clínico-biológica es de escasa utilidad clínica. En la tabla 10.7 se resumen las mutaciones que, con mayor frecuencia, pueden encontrarse en la práctica clínica.

Dada esta elevada heterogeneidad molecular, resulta muy difícil intentar clasificar las formas clínicas de β-talasemia de acuerdo con su patrón molecular, y por ello continúa empleándose la clásica terminología descriptiva que clasifica los síndromes β-talasémicos en cuatro grandes grupos:

1. Talasemia silente.
2. Talasemia menor.
3. Talasemia intermedia.
4. Talasemia mayor o enfermedad de Cooley.

Talasemia silente

Es una forma de β-talasemia sin expresividad clínica ni biológica y, por tanto, su hallazgo es el resultado de un estudio familiar. La disminución de la síntesis de cadenas es tan leve que no se producen alteraciones del VCM ni de la HbA_2.

Genotipo. Los individuos afectados de talasemia mínima son portadores de un gen β-talasemia silente cuya expresión es mínima ($\beta^{silente}$), y su presencia debe sospecharse en familiares de individuos con talasemia intermedia o menor, portadores forzosos de un gen β-talasémico[39].

Diagnóstico. En esta situación, el único procedimiento diagnóstico es el estudio de la síntesis de cadenas de globina, ya que permite demostrar un aumento del cociente α/β. Puede recurrirse también al análisis del DNA mediante procedimientos diversos, como el polimorfismo genético de los fragmentos de restricción (RFLP), la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) e hibridación con oligonucleótidos específicos o el polimorfismo conformacional de cadena sencilla (SSCP) seguido de secuenciación del gen β con finalidades puramente genéticas[19].

Talasemia menor

Constituye la forma de talasemia en la que la expresividad clínica es más leve o menos acusada, hecho por lo que también se la conoce como «rasgo talasémico».

Genotipo. Corresponde a estados heterocigotos para los genes β^+ o β^0 (β^+/β y β^0/β), y es la forma más frecuente de talasemia (tabla 10.8).

Manifestaciones clínicas. La talasemia menor se caracteriza por una seudopoliglobulia microcítica, con anemia muy leve o prácticamente inexistente. Muy rara vez se aprecia esplenomegalia, por lo que el diagnóstico suele ser casi siempre casual y facilitado por el empleo de analizadores hematológicos que suministran de forma sistemática los valores de VCM y HCM. El carác-

TABLA 10.7

Mutaciones más frecuentes del gen β

Población	Mutación del gen β	Intensidad
India	-619 del	β^0
Mediterránea	-101	β^{++}
Negra	-88	β^{++}
Mediterránea; africana	-87	β^{++}
Japonesa	-31	β^{++}
Africana	-29	β^{++}
Asiática	-28	β^{++}
Negra	-26	β^{++}
Mediterránea; asiática, india	IVS1-nt1	β^0
Mediterránea; asiática, india	IVS1-nt5	β^0
Mediterránea	IVS1-nt6	$\beta^{+/++}$
Mediterránea	IVS1-nt110	β^+
China	IVS2-nt654	β^+
Mediterránea	IVS2-nt745	β^+
Mediterránea	codón 39	β^0
Mediterránea	codón 5	β^0
Mediterránea; afroamericana	codón 6	β^0
Asiática	codones 41/42	β^0
Afroamericana	AATAAA to AACAAA	β^{++}
Mediterránea	AATAAA to AATGAA	β^{++}
Mediterránea	Hb Knossos	β^{-+}
Asiática	HbE	β^{++}

TABLA 10.8

Formas clínicas de β-talasemia

	Hb	VCM	HbA_2	HbF	HbA	Otras Hb
TALASEMIA SILENTE						
$\beta^{Silente}/\beta$	N	N	N	N	N	NO
TALASEMIA MENOR						
β^+ o β^0/β	N ↓	↓	3-7%	< 2%	N	NO
$(\delta\beta)^0/\beta$	↓	↓	2,5-3%	5-20%	70-90%	NO
$(\delta\beta)^{Lepore}/\beta$	N↓	↓	< 2%	1-3%	N	Hb Lepore (5-15%)
TALASEMIA INTERMEDIA						
β^+/β^+(raza negra)	↓↓	↓	5-8%	40-80%	5-10%	NO
β^0/β	↓	↓	> 3,2%	2-10%	70-90%	NO
$\beta^+/(\delta\beta)^0$	↓↓	↓↓	< 2%	> 5%	20-30%	NO
$\beta^0/(\delta\beta)^0$	↓↓	↓↓	< 2%	60-90%	0%	NO
β^+ o $\beta^0/(\delta\beta)^{Lepore}$	↓↓	↓↓	< 2%	5-10%	N	Hb Lepore (2-5%)
TALASEMIA MAYOR						
β^+/β^+(mediterránea)	↓↓↓	↓↓	3-9%	20-90%	20-30%	NO
β^+/β^0	↓↓↓	↓↓	1-3,5%	> 75%	20-30	NO
β^0/β^0	↓↓↓	↓↓	1-8%	> 94 %	0%	NO
$(\delta\beta)^{Lepore}/(\delta\beta)^{Lepore}$	↓↓↓	↓↓	0%	70-90%	0%	Hb Lepore (8-30%)

ter hipocromo de la microcitosis explica el hecho de que este trastorno genético sea fácilmente confundido en la práctica clínica por un estado ferropénico, por lo que estos individuos suelen verse sometidos muchas veces a tratamientos prolongados con hierro antes de que se establezca el correcto diagnóstico. No debe olvidarse que un estado talasémico, incluso en su forma menor, puede ir acompañado de sobrecarga de hierro por exceso de absorción intestinal. Por ello, el tratamiento marcial resulta aquí contraindicado.

Diagnóstico. En casi todos los casos, el diagnóstico de β-talasemia menor se basa en la electroforesis de hemoglobinas y en el correspondiente estudio familiar. La electroforesis de hemoglobinas a pH alcalino constituye el procedimiento más rápido y asequible para el diagnóstico de β-talasemia menor donde, en sus formas más habituales, se observa un aumento característico de la fracción HbA_2 (3,8-7%) con HbF normal (< 2%) o muy discretamente elevada. La prueba de Kleihauer, no obstante, siempre muestra la presencia de un número algo superior al normal de eritrocitos con HbF. Si no se observa aumento de HbA_2, debe establecerse el diagnóstico diferencial con otras formas de talasemia menor, como la δβ-talasemia heterocigota $(\delta\beta)^0/\beta$ caracterizada por un aumento exclusivo de HbF (5-20%) o una Hb Lepore heterocigota con presencia de una fracción hemoglobínica (5-15%) de migración anómala o Hb Lepore. En caso de duda, puede resultar útil el análisis *in vitro* de la síntesis de cadenas de globina y la determinación del cociente α/β. En condiciones normales, el cociente α/β es aproximadamente 1, mientras que en la β-talasemia es siempre superior a 1 debido al exceso de cadenas α.

En países como España, en los que existe una elevada incidencia de β-talasemia heterocigota, se considera muy necesario tanto el escrutinio sistemático del déficit, como la realización de un consejo genético a los individuos afectados, con el fin de prevenir la talasemia homocigota (enfermedad de Cooley) cuya expresividad clínica suele ser muy intensa[40].

Talasemia intermedia

Constituye la forma de talasemia cuya expresividad clínica se halla entre la correspondiente a las formas de talasemia menor y mayor.

Genotipo. Corresponde a estados homocigotos o doble-heterocigotos para los genes β^+ o β^0. También se ha observado talasemia intermedia en individuos doble-heterocigotos para los genes β^0 o β^+ y $(\delta\beta)^0$ o Hb Lepore. Ejemplos de esta situación son los genotipos: β^+/β^+ (raza negra), $\beta^+/(\delta\beta)^0$, $\beta^0/(\delta\beta)^0$, $(\delta\beta)^0/(\delta\beta)^0$, β^0/Lepore y β^+/Lepore (tabla 10.8). En ciertas regiones de Europa se ha demostrado la presencia de lo que parece ser un gen β^0 dominante que genera expresión clínica de talasemia intermedia en estado heterocigoto[41]. En alguno de estos casos el estudio familiar revela que, en realidad, se trata de doble-heterocigotos para los genes β^0 y $\beta^{silente}$, uno de cuyos progenitores es portador de un gen β^0 en estado heterocigoto (talasemia menor) y el otro de un gen $\beta^{silente}$ (talasemia mínima). Finalmente, la interacción de genes α y β-talasemia también puede presentar un cuadro clínico de talasemia intermedia. El genotipo de estos pacientes sólo puede conocerse mediante la realización de un detallado estudio familiar. La combinación de triple α y β^0-talasemia en estado heterocigoto también cursa con talasemia intermedia[33,42].

Manifestaciones clínicas. La talasemia intermedia se caracteriza por anemia moderada o intensa que, prácticamente, nunca requiere transfusiones. Puede decirse que el cuadro clínico de la talasemia intermedia es el de un síndrome hemolítico crónico con palidez, ictericia intermitente, esplenomegalia y alteraciones óseas moderadas, pero sin retraso del crecimiento ni gonadal. Con relativa

frecuencia, se observan complicaciones propias de la hemólisis crónica, como litiasis biliar o sobrecarga férrica por exceso de absorción intestinal de hierro. Si la sobrecarga afecta el miocardio, puede ser causa de muerte.

Diagnóstico. El diagnóstico se basa esencialmente en los exámenes de laboratorio que muestran como aspectos más destacados una anemia de intensidad variable (Hb entre 60 y 90 g/L) con marcada alteración de la morfología eritrocitaria: anisopoiquilocitosis, hipocromía, codocitos o eritrocitos en diana, punteado basófilo y ocasionales eritroblastos circulantes. El examen morfológico de la médula ósea muestra intensa regeneración eritroblástica, con signos de diseritropoyesis entre los que destaca la presencia de precipitados intraeritroblásticos resultado de la desnaturalización de cadenas α en exceso. Al igual que en la talasemia menor, el procedimiento diagnóstico fundamental es la electroforesis de hemoglobinas, que puede mostrar patrones muy variables de acuerdo con la heterogeneidad genotípica de la talasemia intermedia (tabla 10.8).

Talasemia mayor (anemia de Cooley)

Constituye la forma más grave y representativa de la β-talasemia homocigota.

Genotipo. El genotipo de la talasemia mayor puede ser diverso, pero su forma más representativa es el estado homocigoto β^0/β^0 que se caracteriza por un predominio prácticamente absoluto de HbF y ausencia de HbA (tabla 10.8). En el área mediterránea el genotipo predominante de talasemia mayor es el estado homocigoto β^+/β^+, debiendo señalar que el mismo genotipo, cuando está presente en la raza negra, cursa con un síndrome clínico de talasemia intermedia. Otros genotipos de talasemia mayor son las formas doble-heterocigotas β^0/β^+ y Lepore/Lepore. La combinación de formas homocigotas β^0/β^0 y doble-heterocigotas β^0/β^+ propias de la talasemia mayor con genotipos homocigotos de α-talasemia da lugar a manifestaciones clínicas propias de talasemia intermedia, lo que significa que la coexistencia de α-talasemia disminuye la expresividad clínica de la β-talasemia[42].

Manifestaciones clínicas. En la enfermedad de Cooley, la anemia se inicia a partir de los 6 meses del nacimiento, y se caracteriza por su intensidad y gravedad, lo que obliga a instaurar un régimen transfusional periódico. En general, va acompañada de esplenomegalia, a veces gigante, que aparece casi siempre a partir del tercer año de vida, y de una hepatomegalia variable. Con relativa frecuencia, la esplenomegalia va acompañada de hiperesplenismo, con aparición de leucopenia, plaquetopenia y complicaciones infecciosas o hemorrágicas. La exploración física muestra, además de la hepatoesplenomegalia, alteraciones óseas, especialmente en el cráneo y la cara, que muestran deformaciones o alteraciones de su configuración normal (fig. 10.11). En algunos casos, puede ob-

Figura 10.11. Niña con enfermedad de Cooley. Son característicos los rasgos faciales mongoloides, la escasa estatura y la presencia de una marcada esplenomegalia (con hepatomegalia).

servarse también una implantación anómala de los dientes. Cuando estas alteraciones son muy acusadas, pueden producir deformaciones muy visibles, como turricefalia o braquicefalia y rasgos faciales característicos (facies mongoloide). El examen radiológico confirma la existencia de importantes alteraciones de la estructura ósea que afectan principalmente a los huesos de las extremidades (manos y pies), del cráneo y de la cara. Así, es frecuente observar expansiones de la cavidad medular de los huesos tarsianos, con deformaciones lineales o convexas de los mismos, o trabeculación medular con aparición de imágenes en mosaico. En el cráneo es frecuente observar un ensanchamiento del díploe, con aparición entre ambas tablas de imágenes estriadas o perpendiculares que recuerdan un peine o cepillo (cráneo en cepillo). A veces, la expansión de un cuerpo vertebral puede producir una masa paravertebral que, al hacer protusión hacia la cavidad de la médula espinal, puede producir un síndrome de compresión medular, con necesidad de laminectomía. La expansión eritropoyética en los huesos largos produce un debilitamiento de la cortical que puede facilitar la aparición de fracturas patológicas.

Otro signo guía del proceso hemolítico crónico que acompaña a la anemia de Cooley es el retraso del desarrollo estaturo-ponderal, que se atribuye al estado de hipoxia crónico que produce la intensa anemia (fig. 10.11). En parte, esta situación puede prevenirse mediante la aplicación de regímenes transfusionales apropiados al grado de hemólisis crónica y concentración de hemoglobina (hipoxia). Este retraso en el desarrollo corporal suele ir acompañado de un retraso en la producción de diversas hormonas relacionadas con el crecimiento (somatomedina) y con el desarrollo gonadal (retraso de la pubertad). En las niñas, uno de los signos más frecuentes es el retraso de la menarquia y del desarrollo puberal. Otras alteraciones endocrinológicas también observadas en la talasemia mayor son la diabetes mellitus, el hipoparatiroidismo y el hipotiroidismo. Es posible que el estado de sobrecarga férrica crónico y la hemosiderosis sean la causa de aparición de estos trastornos endocrinos.

La alteración del músculo cardíaco es casi constante en la anemia de Cooley, de forma que la existencia de alteraciones del electrocardiograma suele ser uno de sus signos más precoces: alargamiento del segmento PR, inversión del segmento ST o contracciones ectópicas del atrio o de los ventrículos. Ello obedece tanto a la anemia crónica que condiciona la cardiomegalia o dilatación de las cavidades ventriculares como a la sobrecarga férrica (hemosiderosis miocárdica).

Otro órgano sistemáticamente afectado en la talasemia mayor es el hígado. Así, es frecuente apreciar hepatomegalia, en principio secundaria a la eritropoyesis extramedular, y estímulo regenerativo del tejido hepático, que puede evolucionar a cirrosis e insuficiencia hepatocelular grave. La hepatopatía puede verse agravada por la sobrecarga de hierro secundaria a las transfusiones y al aumento de la absorción de hierro intestinal. La posibilidad de padecer hepatitis B también constituye otro factor que se debe tener en cuenta como posible condicionante de la función hepática. La hepatopatía crónica produce, a su vez, defectos en la síntesis de los factores de la coagulación y aparición de hemorragias.

Diagnóstico. El diagnóstico de β-talasemia homocigota se basa en la observación morfológica de sangre periférica y médula ósea, y en la práctica de una electroforesis de hemoglobinas. El examen morfológico de la sangre periférica, sin influencia de transfusión previa, se caracteriza por una anemia muy intensa (Hb: 25-65 g/L) de carácter microcítico (VCM: 45-75 fL) e hipocromo (CCMH: 230-260 g/L), acompañada de marcada anisopoiquilocitosis, punteado basófilo, dacriocitos, codocitos (dianocitos) y eritroblastosis (fig. 10.12). La alteración de la morfología es tan manifiesta que pueden observarse eritrocitos de todos los tamaños y formas (codocitos, eliptocitos, dacriocitos, esquistocitos, etc.) siendo los leptocitos (eritrocitos aplanados y muy hipocromos) los más abundantes. Asimismo, es frecuente observar también leucocitosis y trombocitosis, especialmente después de practicar la esplenectomía. Los reticulocitos suelen hallarse aumentados, aunque nunca tanto como correspondería al grado de anemia y eritroblastosis medular. Ello es un reflejo de la eritropoyesis ineficaz que, invariablemente, acompaña a esta enfermedad. El examen de médula ósea muestra siempre una acusada hiperplasia eritroblástica de predominio ortocromático (la relación mieloeritroide suele ser de 1/10). Ocasionalmente, pueden apreciarse rasgos megaloblásticos (bloqueo madurativo) y de diseritropoyesis (binuclearidad, alteraciones de la cromatina y sideroacresia). El estudio estructural de los eritroblastos en pacientes talasémicos muestra diversas alteraciones relacionadas directamente con el descenso de la síntesis de hemoglobina y el estado de sobrecarga férrica (precipitados de cadenas intracitoplasmáticas o intranucleares, aumento del número de siderosomas y del hierro intramitocondrial). Los macrófagos medulares y esplénicos muestran una elevada actividad funcional, por lo que no es infrecuente observar en estos enfermos células espumosas intensamente PAS-positivas (células tesaurismóticas) de características morfológicas y tintoriales similares a las de las células de Gaucher.

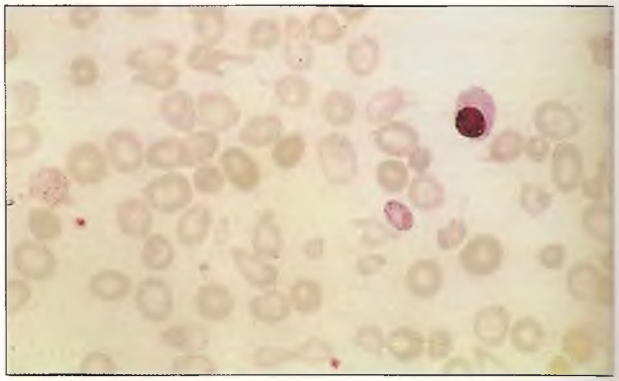


Figura 10.12. Extensión de sangre de la paciente anterior, teñida mediante MGG. Obsérvese la intensa hipocromía y alteración de la morfología eritrocitaria (anisopoiquilocitosis). A la derecha se observa un eritroblasto.

La electroforesis de hemoglobinas evidencia siempre un aumento de la HbF que oscila entre el 60-98%, y que, según el grado de síntesis residual de cadenas de β-globina, puede ir acompañado de un aumento simultáneo de la HbA_2 (β^+/β^+), de HbA_2 normal (β^0/β^+) o de

una disminución de HbA_2 y ausencia total de HbA (δ^0/β^0). La forma con aumento de HbA_2 corresponde a la variedad moderada de talasemia mayor, mientras que la forma sin HbA normal es la más grave[1,43].

Junto a estas pruebas básicas e imprescindibles para el diagnóstico, existen otras que son reflejo de la intensa destrucción eritrocitaria y de sus precursores medulares en el curso de la enfermedad (aumento de la bilirrubina no conjugada, desaparición de la haptoglobina plasmática y emisión urinaria de mesobilifuscina). La vida media eritrocitaria (51Cr T/2) suele hallarse casi siempre disminuida, y el estudio ferrocinético muestra un patrón de eritropoyesis ineficaz.

δβ-Talasemia

La expresión clínica de la δβ-talasemia depende de que se trate de un estado heterocigoto u homocigoto. El rasgo heterocigoto siempre es clínicamente asintomático, y como alteraciones más destacadas presenta una microcitosis con aumento de la HbF (7-15%). El patrón electroforético no muestra nunca un aumento de la HbA_2 y la prueba de la HbE sobre porta de Kleihauer indica una distribución heterogénea de la HbF (fig. 10.13). El rasgo homocigoto suele presentar las características clínicas de una talasemia intermedia sin requerimiento transfusional (Hb: 80-110 g/L), microcitosis importante y casi un 100% de HbF, con desaparición de la HbA normal. En nuestro medio, la δβ-talasemia es relativamente frecuente, especialmente en el área mediterránea y en la región levantina, y no es rara su asociación con β-talasemia, en cuyo caso, puede apreciarse una anemia moderada o relativamente intensa (talasemia intermedia). La existencia de anemia, un gran aumento de HbF y el descenso de la fracción HbA normal deben hacer pensar siempre en una asociación de este tipo (tabla 10.8).

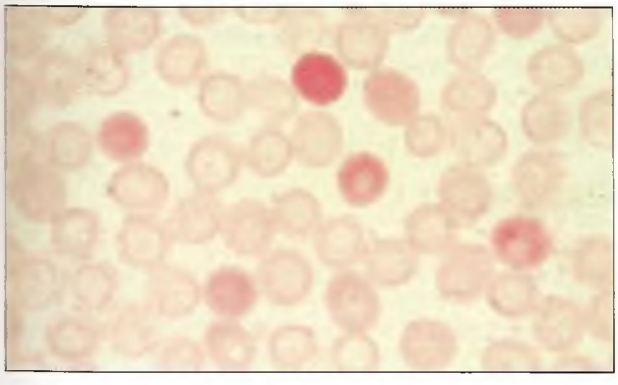


Figura 10.13. Extensión de sangre de un paciente con δβ-talasemia, teñida con el método de Kleihauer (patrón heterogéneo).

El conocimiento de las características de la deleción ha permitido la descripción de diversos tipos moleculares de δβ-talasemia que dependen de la longitud o extensión del material genético delecionado (Turca, Siciliana, Laotiana, China, India, Negro-Americana. Macedonia, Japonesa, etc.). En España, la forma predominante es la $(\delta\beta)^0$-talasemia Spanish, o española, cuyo conocimiento a nivel molecular ha permitido diseñar un método rápido para su escrutinio mediante PCR[44].

Persistencia hereditaria de hemoglobina fetal (PHHF)

En la δβ-tal, la síntesis de HbF, al conllevar un menor desequilibrio α/β se traduce en una menor expresividad clínica. Este fenómeno compensatorio es total en la deleción del complejo β conocida como *persistencia hereditaria de la hemoglobina fetal (PHHF)*, cuyas características moleculares, aunque muy similares a las de las δβ-tal no se acompañan de repercusiones clínicas, incluso en estado homocigoto[6,18].

Hasta la actualidad, se han descrito diversas formas clínicas de PHHF. En la mayoría de ellas la HbF presenta una distribución homogénea en los eritrocitos (PHHF pancelular), mientras que en otras esta distribución es parcelar, ya que no afecta a todos los eritrocitos por igual (PHHF heterocelular).

PHHF pancelular

Muestra, mediante el método de la elución ácida sobre porta (Kleihauer), un aumento uniforme de HbF en los eritrocitos. Esta forma de PHHF se ha descrito preferentemente en individuos de grupos étnicos concretos, como la raza negra y oriundos de Grecia. La *PHHF de la raza negra* obedece casi siempre a una deleción total de los genes β y δ, aunque existe una forma no delecional (fig. 10.8). Es totalmente asintomática en cualquiera de sus formas homocigota o heterocigota, las cuales pueden diferenciarse entre sí mediante síntesis *in vitro* de cadenas globínicas. Así, mientras el estado homocigoto presenta una relación α/β de 1,4 a 3,3 (media de 2,0), en el estado heterocigoto ésta es de 0,8 a 1,4 (media de 1). Aunque existen diversas variedades de PHHF en la raza negra, los individuos heterocigotos presentan valores elevados de HbF (17-30%) y disminución de la HbA_2 (1,6-2,2%). El VCM y HCM se hallan sólo muy ligeramente disminuidos, y en ocasiones pueden apreciarse codocitos (eritrocitos en diana) circulantes. En el estado homocigoto (HbF: 100%) se ha descrito algún caso con esplenomegalia, reticulocitosis y eliptocitosis, aunque en la mayoría de casos existe moderada poliglobulia (Hb: 150-185 g/L) con disminución del VCM y HCM. La asociación PHHF homocigota con β^0 o β^+-talasemia muestra un cuadro clínico de talasemia menor. La asociación, relativamente frecuente, con la HbS, puede confundirse fácilmente con la anemia falciforme por HbS/S, ya que no existe HbA y la fracción HbS es del 60-85%, siendo el resto (13-35%) de HbF. No obstante, desde el punto de vista clínico, no existe anemia ni drepanocitosis.

La forma de *PHHF griega* heterocigota obedece a una mutación puntual que genera un estímulo en la expresión del gen Aγ exclusivamente. Presenta valores de HbF inferiores a los de la PHHF de la raza negra, y cuando se asocia con β-talasemia heterocigota, el cuadro clínico es de talasemia intermedia (HbA_2: 3,6-5,2 y HbF: 20-40%).

PHHF heterocelular

En esta forma de PHHF, la distribución de HbF eritrocitaria es irregular, pero su distribución étnica no es tan uniforme como en la PHHF pancelular. Las variantes de PHHF heterocelular mejor estudiadas son la Suiza y Británica. En todas ellas se ha demostrado la presencia

de los dos tipos de cadenas globínicas γ, aunque en proporciones algo diferentes. A diferencia de la PHHF pancelular, el porcentaje de HbF, tanto en el estado homocigoto como en el heterocigoto, es sensiblemente inferior, y no llega a superar el 15% en el estado heterocigoto. La variante de PHHF heterocelular que presenta valores más elevados de HbF es la británica (18-21% en homocigotos, y 3,5-10% en heterocigotos) que en ningún caso se acompaña de anemia ni de alteraciones clínicas o hematológicas. Al no existir un desequilibrio en la síntesis de cadenas globínicas, no puede emplearse este método para el diagnóstico del trastorno. Finalmente, la imposibilidad de demostrar mutaciones en el cluster β, impide conocer con precisión el mecanismo de este defecto molecular, aunque permite diferenciarla claramente del resto de síndromes talasémicos, incluida la PHHF pancelular.

TRATAMIENTO

El tratamiento de la talasemia mayor es esencialmente paliativo y consiste en la práctica de transfusiones cuya periodicidad depende de la necesidad de mantener el nivel de hemoglobina[45]. Las transfusiones deben acompañarse de la administración de quelantes del hierro y, eventualmente, de la práctica de una esplenectomía.

Transfusiones

En los pacientes con talasemia mayor la transfusión presenta las siguientes peculiaridades:

1. Emplear solamente concentrados de eritrocitos, con viabilidad y función conservadas mediante procedimientos adecuados.
2. Conseguir el nivel determinado de concentración de hemoglobina (90-110 g/L).
3. Evitar con el máximo empeño cualquier efecto adverso de la transfusión.

Como preparados de eritrocitos para transfundir pueden emplearse varias modalidades según el caso:

1. *Concentrados de eritrocitos filtrados.* El efecto de las reacciones alérgicas postransfusionales, presentes en algunos pacientes talasémicos, pueden minimizarse mediante filtración de la sangre inmediatamente después de la extracción. La filtración, mediante métodos apropiados, elimina los leucocitos y las plaquetas, siendo recomendable emplear concentrados de eritrocitos que no superen una concentración de leucocitos de 5×10^6. Además del filtrado, se recomienda también el lavado de los eritrocitos al objeto de eliminar todas aquellas proteínas presentes en el plasma del donante que puedan actuar como alergenos en el receptor. Esta precaución es especialmente importante en el déficit de IgA, ya que la formación de anticuerpos contra la IgA por parte del receptor puede condicionar la aparición de una reacción anafiláctica. Finalmente, los eritrocitos obtenidos son concentrados mediante centrifugación. El lavado exclusivo de eritrocitos, si bien contribuye a eliminar los leucocitos, carece de la eficacia de la filtración, por lo que no puede usarse como sustituto de aquella en los casos mencionados.
2. *Empleo de eritrocitos criopreservados.* En pacientes con anticuerpos poco comunes y para los que se carece de donantes apropiados se recomienda el empleo de eritrocitos criopreservados. El Consejo de Europa está promoviendo la creación de una red internacional de donantes para estos casos (www.coe.fr/index.asp).
3. *Empleo de neocitos.* En algunos casos, la administración de eritrocitos jóvenes (neocitos) puede ser un sistema para disminuir el requerimiento transfusional. Este sistema, no obstante, tiene el inconveniente de que son necesarios más de un donante para recolectar una unidad de concentrado de eritrocitos para transfundir, con el consiguiente aumento del coste, pero también de riesgo de transmisión de enfermedades y reacciones adversas por aloanticuerpos.

En pacientes afectados de talasemia mayor se aplican programas de transfusión que comportan la administración regular (cada 2-5 semanas) de concentrados de eritrocitos que permitan mantener una concentración de hemoglobina superior a 90 g/L. Con este régimen transfusional, se consigue mejorar el crecimiento corporal y que el paciente pueda desarrollar una vida casi normal. Además, esta administración periódica de sangre disminuye el exceso de regeneración eritroblástica de la médula ósea y, con ello, la absorción y sobrecarga de hierro[46].

La decisión de aplicar a un paciente este protocolo sólo es admisible cuando existe la completa seguridad de que se trata de una talasemia mayor o anemia de Cooley, y de que se ha realizado el correspondiente diagnóstico molecular.

El volumen de sangre que se debe transfundir puede variar de acuerdo con el anticoagulante empleado para la preservación. Si se emplean unidades con CPD-A y un hematocrito del 75% aproximadamente, el volumen a transfundir puede variar entre 10 a 15 mL/kg, administrados durante unas 3-4 horas. El empleo de unidades con valores inferiores de hematocrito (60-70%) requiere un mayor volumen de concentrado transfundido para obtener el mismo efecto. En general, este problema puede obviarse si en lugar de tener en cuenta el volumen de sangre a administrar se considera únicamente el número de unidades (una o dos por transfusión), con la salvedad que en niños pequeños pueden emplearse fracciones de unidad en lugar de unidades enteras, y un mayor tiempo de infusión. Igualmente sucede con pacientes afectados de insuficiencia cardíaca y valores iniciales de hemoglobina muy disminuidos (tabla 10.9). En cualquier caso, después de la transfusión la concentración de hemoglobina no debe superar los 150 g/L, por lo que es esencial mantener un control postransfusional de la misma.

Administración de quelantes de hierro

En la talasemia mayor, las transfusions deben administrarse siempre conjuntamente con quelantes del hierro. Aunque en un principio los llamados regímenes hipertransfusionales comportaban una importante sobrecarga de hierro, la aplicación de un régimen transfusional como el mencionado en el apartado anterior permite mantener una concentración de hemoglobina de 90-105 g/L, suficiente para una adecuada oxigenación de los tejidos[47]. Con todo, ello comporta también, aunque menos acusa-

TABLA 10.9

Esquema para conocer la cantidad de concentrado de eritrocitos que se debe administrar a pacientes con talasemia mayor, según el valor hematocrito de la unidad empleada

Unidad		50%	60%	75%	80%
Aumento deseado de concentración de Hb	10 g/L	4,2 mL/kg	3,5 mL/kg	2,8 mL/kg	2,6 mL/kg
	20 g/L	8,4 mL/kg	7,0 mL/kg	5,6 mL/kg	5,2 mL/kg
	30 g/L	12,6 mL/kg	10,5 mL/kg	8,4 mL/kg	7,8 mL/kg
	40 g/L	16,8 mL/kg	14,0 mL/kg	11,2 mL/kg	10,4 mL/kg

Ejemplo. Para aumentar la hemoglobina en 40 g/L en un paciente de 40 kg empleando un concentrado de 60% de hematocrito, se requieren 560 ml de eritrocitos (este cálculo tiene en cuenta un volumen sanguíneo de 70 mL/kg de peso corporal).

do que en la hipertransfusión, un aumento paralelo de la sobrecarga de hierro que, en ocasiones, puede superar los niveles permisibles. Por ello, y ante la posibilidad de que algunos órganos vitales puedan verse afectados por la toxicidad del hierro, es imprescindible instaurar la administración periódica de quelantes de hierro. Entre ellos, el más utilizado es la desferroxiamina, descubierta en 1960 y administrada por vía intramuscular[48], y cuya eficacia terapéutica no fue, en realidad, bien evaluada hasta 10 años después, cuando se demostró su importante efecto sobre la disminución de la concentación de hierro hepático y, por tanto, del riesgo de cirrosis hepática[49]. A partir de los años 1980 también pudo confirmarse que los pacientes talasémicos tratados con desferroxiamina presentaban una mayor supervivencia y calidad de vida[50,51]. Finalmente, se ha demostrado también que el riesgo de cardiopatía guarda relación directa con la concentración de hierro hepático y, por tanto, de forma que disminuye notablemente si la concentración de hierro en el hígado se mantiene por debajo de 15 mg/g (peso seco)[52].

La administración de agentes quelantes debe iniciarse en el momento en que la concentración de ferritina sérica alcanza valores cercanos a 1.000 µg/L, lo cual suele suceder después de la administración de las primeras 10-20 transfusiones.

Como compuesto activo, se utiliza en la práctica clínica el mesilato de desferroxiamina (DFO), conocido como Desferal, que se administra por vía subcutánea en forma de infusión continua (8-10 horas) con bomba de infusión. Este tratamiento se repite entre 5 y 7 veces por semana, y se controla mediante la medida de la eliminación urinaria de hierro (< 0,5 mg/kg/día). La dosis que se administra debe ajustarse de acuerdo con los niveles de reserva de hierro (ferritina) y la edad del paciente. Para ello puede emplearse la siguiente fórmula[53]:

$$\text{Índice terapéutico} = \frac{\text{dosis diaria media (mg/kg)}}{\text{ferritina (µg/L)}}$$

Debe procurar mantenerse un índice terapeutico inferior a 0,025.

Esplenectomía

Muchos pacientes con talasemia mayor e hiperesplenismo pueden beneficiarse de la esplenectomía. No obstante, la aplicación de un protocolo transfusional eficaz en el momento del diagnóstico previene en gran manera contra el hiperesplenismo y, por tanto, la necesidad de la esplenectomía. Cabe destacar que en la talasemia mayor el tamaño del bazo puede variar con la evolución del cuadro clínico, de manera que es algo superior en los períodos intertransfusionales. Por ello, antes de abordar la esplenectomía es recomendable realizar primero un seguimiento o monitorización de las variaciones de tamaño del bazo, mediante palpación o ecografía. La esplenectomía en la talasemia mayor se recomienda en las siguientes situaciones:

1. Pacientes con frecuentes complicaciones postransfusionales o en los que resulta difícil controlar la sobrecarga de hierro. Cabe señalar que si la quelación es eficaz, incluso en casos de requerimientos transfusionales muy frecuentes, el efecto beneficioso de la esplenectomía es muy escaso. Por el contrario, si a pesar del tratamiento quelante se aprecia un aumento de la sobrecarga de hierro, la esplenectomía puede ser una buena opción para disminuir el régimen transfusional.
2. Esplenomegalia gigante con síntomas de compresión y dolor intenso en el hipocondrio izquierdo. En estos casos, la esplenectomía también es aconsejable, dado el riesgo de rotura esplénica.
3. Signos de hiperesplenismo (leucopenia y plaquetopenia intensas) con complicaciones infecciosas o también hemorrágicas.

La esplenectomía puede ser total (extirpación quirúrgica mediante intervención abierta o laparoscopia) o parcial, al objeto de mantener cierta función inmunitaria. Los efectos de la esplenectomía parcial sobre la inmunidad en individuos de edad superior a 5 años son discutibles, y algunos autores no la recomiendan, porque con el tiempo, el fragmento de bazo residual puede adquirir una función vicariante y reemplazar la del órgano entero. Un detalle importante es que antes de la esplenectomía debe valorarse la posible existencia de litiasis biliar (frecuente en estos pacientes), al objeto de practicar una resección conjunta (esplenectomía y colecistectomía) durante el mismo acto quirúrgico. Igualmente, puede aprovecharse la situación para extirpar también el apéndice y así evitar los problemas derivados de la confusión entre infección por *Yersinia enterocolitica* y apendicitis aguda, relativamente frecuente

en estos pacientes. Finalmente, la intervención también debe aprovecharse para realizar una biopsia hepática y determinar su contenido en hierro.

Las complicaciones de la esplenectomía en los pacientes talasémicos derivan de que la trombocitosis posquirúrgica aumenta el riesgo de trombosis. Por ello, se aconseja siempre la administración de pequeñas dosis de aspirina (80 mg/kg/día), especialmente si el recuento de plaquetas es elevado. El mayor riesgo de la esplenectomía sigue siendo, no obstante, la sepsis por *Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae* y *Neisseria meningitidis*, cuyo riesgo en la talasemia es unas 30 veces superior al de otras situaciones. Aunque los procedimientos actuales de prevención han reducido notablemente este riesgo, su consideración siempre es importante. La sepsis por gérmenes gramnegativos *como Escherichia coli, Klebsiella* y *Pseudomonas aeruginosa* son poco frecuentes, pero fulminantes. Clínicamente, los signos precoces de sepsis postesplenectomía son fiebre, escalofríos, vómitos y cefaleas. Sin tratamiento, el proceso progresa rápidamente hacia un estado de shock por hipotensión y desarrollo de una coagulación intravascular diseminada (CID) que puede llevar a la muerte del enfermo. Debe señalarse que este cuadro clínico, que recuerda el síndrome de Waterhouse-Friederichsen, presenta una mortalidad del 50% incluso después de aplicar medidas terapéuticas inmediatas. Por ello, es trascendental establecer un diagnóstico precoz de la situación y, en todo caso, aplicar medidas profilácticas como inmunoprofilaxis, quimioprofilaxis y medidas educacionales.

1. *Inmunoprofilaxis.* Vacunación contra *Streptococcus pneumoniae* mediante administración subcutánea o intramuscular. Debe administrarse 2 semanas antes de la esplenectomía, y entre 3 y 5 años después de ella. En los niños de corta edad, este período es menos prolongado y debe practicarse una o dos revacunaciones. Igualmente, es aconsejable una vacunación contra *Haemophilus influenzae.*
2. *Quimioprofilaxis.* Es la administración profiláctica de antibióticos. En general, se emplea la penicilina oral en dosis de 125 mg/día en niños de menos de 2 años, y de 250 mg/día en pacientes con edades superiores. Alternativamente, pueden emplearse otros antibióticos como la amoxicilina, trimetoprima-sulfametoxazol y eritromicina. En general, se aplican tratamientos profilácticos sistemáticos con antibióticos a todos los pacientes esplenectomizados, al menos durante los dos primeros años, aunque su eficacia real se desconoce.
3. *Medidas educacionales.* La educación del paciente y de sus familiares es muy importante para prevenir complicaciones postoperatorias, especialmente las debidas a infecciones. Debe inculcarse tanto a padres como a pacientes la importancia de dar valor a los signos precoces de sepsis, especialmente la fiebre, y acudir inmediatamente a la consulta para que sean practicadas las exploraciones siguientes:

   a) Examen físico del paciente.
   b) Análisis de sangre y heces, si se cree necesario.
   c) Iniciar antibioticoterapia contra *Streptococcus pneumoniae* y *Neisseria meningitidis.*

Trasplante de médula ósea (TMO)

El trasplante de progenitores hematopoyéticos a partir de gemelos HLA-idénticos constituye un procedimiento cada vez más empleado en algunas hemoglobinopatías y talasemias graves[54]. El grupo de Lucarelli ha venido realizando este tipo de trasplante desde el año 1981 con bastante éxito[55]. A la mejora de los resultados han contribuido el uso de ciclosporina, el mejor tratamiento de las infecciones por CMV, la mejor prevención de las infecciones en general (asepsia) y la evolución de la antibioticoterapia. Los pacientes con talasemia mayor presentan tres factores de riesgo que deben ser considerados en caso de que deban someterse a un TMO:

1. Tratamiento inadecuado con quelantes del hierro.
2. Cirrosis hepática.
3. Hepatomegalia.

Para el TMO, los pacientes se clasifican en tres grupos de riesgo:

Grupo I: No presentan ningún factor de riesgo.
Grupo II: Presentan dos factores de riesgo.
Grupo III: Presentan todos los factores de riesgo.

Para pacientes de menos de 16 años de edad y pertenecientes al grupo I, la probabilidad de sobrevivencia libre de enfermedad oscila entre el 91-93%, con un 2% de riesgo de rechazo y un 8% de muerte. Para pacientes del grupo II, estos valores son, respectivamente, 83-87, 3 y 15%, y para pacientes del grupo III, 58-79, 28 y 19%, respectivamente. En este ultimo grupo, la introducción de un régimen de acondicionamiento mediante 200 mg/kg de ciclofosfamida ha supuesto una notable disminución del riesgo de muerte a costa de un mayor riesgo de rechazo.

En pacientes de edad superior a los 16 años, la posibilidad de sobrevivir al trasplante es menor que en los niños, siendo la probabilidad de curación del 62%, y de rechazo, del 35%. Estos resultados permiten determinar cuándo un paciente con talasemia mayor puede ser sometido a un TMO.

Cuando no se dispone de gemelos univitelinos, la alternativa son los donantes histocompatibles. Lamentablemente, en este caso las complicaciones del trasplante son muy superiores en comparación al realizado con un donante HLA-idéntico, aunque hay que esperar que la mejora de los procedimientos para la búsqueda de donantes también permita mejorar estos resultados en un futuro.

Más recientemente, el empleo de células madre de sangre de cordón umbilical constituye una gran esperanza[56]. Esta técnica presenta las siguientes ventajas: *a*) la fácil obtención de la sangre de cordón a partir de recién nacidos; *b*) la posibilidad de obtener un número relativamente elevado de células madre y su fácil manipulación; *c*) el menor índice de rechazos, y *d*) la posibilidad de crear un banco de donantes de sangre de cordón mucho más sistematizado que el de donantes de sangre.

Finalmente, en el tratamiento de la talasemia mediante TMO es muy importante el seguimiento postransplan-

te. A lo largo del primer año es imprescindible un control periódico de las magnitudes de la sangre, para monitorizar la calidad del implante y vigilar en extremo la posible aparición de infecciones o de la enfermedad del implante contra el huésped (GVHD). Asimismo, resulta también muy importante controlar la evolución de las posibles complicaciones de la talasemia (sobrecarga férrica, desarrollo óseo y puberal, anomalías endocrinas, etc.). En cualquier caso, y siempre que se detecte sobrecarga férrica, puede eliminarse el exceso de hierro mediante sangrías a razón de 6 mL/kg de sangre a intervalos de 14 días.

Terapia génica

Recientemente, el empleo de vectores lentivirales en modelos animales ha conseguido inducir la síntesis de importantes cantidades de globina[57], y con estos resultados alentadores se cree que la terapia génica en la talasemia puede seguir las etapas siguientes:

1. Obtener células hematopoyéticas del paciente a partir de médula ósea.
2. Infectar las células hematopoyéticas con un lentivirus portador de un gen de globina funcional.
3. Preparar al paciente mediante quimioterapia para permitir el anidamiento medular de las células hematopoyéticas tratadas, que son administradas mediante infusión endovenosa (transfusión).

En otras enfermedades humanas como por ejemplo la inmunodeficiencia combinada grave (SCID), este tratamiento ha conseguido salvar al menos a 12 pacientes. Los intentos realizados en la hemofilia mediante el mismo sistema no han tenido tanto éxito. Los ensayos clínicos en pacientes con talasemia grave aún no se han iniciado, por el riesgo potencial (aún no del todo bien demostrado) de que la infección de las células hematopoyéticas mediante el retrovirus pueda tener como consecuencia a largo plazo el desarrollo de una leucemia aguda. Por ello, y aunque la posibilidad teórica de aplicar terapia génica a estos pacientes es un hecho bien demostrado, su implantación clínica debe esperar hasta que pueda garantizarse con absoluta seguridad que la administración de estos retrovirus no comportará a largo plazo la activación de oncogenes capaces de desarrollar una segunda neoplasia.

El empleo de métodos de recombinación homóloga dirigida e inserción de secuencias sanas de un gen β que permitan una síntesis normal de globina puede considerarse como una alternativa a la administración de retrovirus para corregir genes defectuosos. El problema de este procedimiento es su escasa eficacia, debido al poco tiempo que dura la acción beneficiosa.

BIBLIOGRAFÍA

1. Weatherall DJ, Clegg JB. Thalassaemia Syndromes, 4.ª ed. Oxford: Blackwell Science, 2001.
2. Hardison RC, Chui DH, Giardine B et al. A relational database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations at the globin gene server. Human Mutation 2002; 19:225-233.
3. Calero F, Villegas A, Valverde F, Del Potro E, Luque JM. Hematologic data in 825 cases of β-thalassemia trait in Spain. Nouv Rev Hematol 1990; 32:265-270.
4. Villegas A, Ropero P. Hemoglobinopatías y alteraciones de los eritrocitos. En: González de Buitrago JM, Medina Jiménez JM, (eds.). Patología Molecular. Madrid: Editorial Interametricana, 2001.
5. Siniscalco M, Bernini L, Filippi G. Population genetics of hemoglobin variants, thalassaemia and glucose-6 phosphate dehydrogenase deficiency with particular reference to the malaria hypothesis. Bull World Health Organ 1966; 34:379-393.
6. Forget G. Cohen A. Thalassaemia Syndromes En: Hoffman R, Benz EB, Shattil S et al (eds.). Hematology Basic Principles and Practice, 4.ª ed. Philadelphia: Churchill Livingstone 2005; 557-589.
7. Vives JL, Aguilar JL. Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología, 2.ª ed. Barcelona: Masson, 1997.
8. Old J, Petrou M, Varnavides L, Layton M, Modell B. Accuracy of Prenatal Diagnosis for Haemoglobin disorders in the UK: 25 years experience. Prenatal Diagnosis 2000; 20:986-991.
9. Southern EM. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. J Mol Biol 1975; 98:503-517.
10. Liu T, Old JM, Fisher CA, Weatherall DJ, Clegg JB. Rapid detection of -thalassaemia deletions and -globin gene triplication by multiplex polymerase chain reactions. Br J Hematol 1999; 108: 295-299.
11. Chong SS, Boehm CD, Higgs DR, Cutting GR. Single-tube multiplex-PCR screen for common deletional determinants of -thalassaemia. Blood 2000; 95:360-362.
12. Harteveld KL, Heister AJGAM, Giordano PC Losekoot M, Bernini LF. Rapid detection of point mutations and polymorphisms of the -globin genes by DGGE and SSCA. Human Mutation 1996; 7:114-122.
13. Losekoot M, Fodde R, Harteveld CL, Van Heeren H, Giordano PC, Bernini LF. Denaturing gradient gel electrophoresis and direct sequencing of PCR amplified genomic DNA: a rapid and reliable diagnostic approach to beta thalassaemia. Br J Haematol 1991; 76:269-274.
14. Wild BJ, Green GN, Cooper EK et al. Rapid identification of hemoglobin variants by electrospray ionisation mass spectrometry. Blood, Cells, Molecules and Disease 2001; 27:691-704.
15. Orita M, Iwahana H, Kanazawa H, Hayashi K, Sekiya T. Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphism. Proc Nat Acad Sci (USA) 1989; 86:2766-2770.
16. Ayala S. Nuevas aportaciones al estudio de la biología molecular de la alfa-talasemia. Universidad de Barcelona, 1997.
17. Hatton C, Wilkie AO, Drysdale HC et al. Alpha thalassemia caused by a large (62 kb) deletion upstream of the human a globin gene cluster. Blood 1990; 76:221-227.
18. Weatherall DJ, Clegg JB. Hereditary Persistence of fetal Haemoglobin. Br J Haematol 1975; 29:191-198.
19. Working Party of the General Haematology Task Force of the British Committee for Standards in Haematology (1998) Guideline: The Laboratory Diagnosis of Haemoglobinopathies. British Journal of Haematology, 101; 783-792.
20. Giordano PC, Van Delft P, Batelaan D, Harteveld CL, Bernini LF. Haemoglobinopathy analyses in the Netherlands: a report of an in vitro globin chain biosynthesis survey using a rapid, modified method. Clin Lab Haematol 1999; 21:247-256.
21. Rozman C, Capdevila J, Woessner S, Marti I. Hemoglobinopatía H (forma de α-talasemia) en una familia española. Rev Clin Es 1966; 103:373-377.
22. Villegas A, Ropero P. Síndromes talasémicos. En: García-Conde Bru J, San Miguel JF, Sierra Gil J, Vicente García V, Urbano

CAPÍTULO 11

Anemias hemolíticas adquiridas

J. L. Vives Corrons

ÍNDICE

Concepto y clasificación
Anemias hemolíticas de mecanismo inmune
Anemia hemolítica autoinmune (AHAI)
Tipos de autoanticuerpos y mecanismo fisiopatológico
Etiopatogenia
Manifestaciones clínicas y diagnóstico
Anemia hemolítica autoinmune (AHAI) común
Anemia hemolítica autoinmune (AHAI) por anticuerpos «fríos»
Hemoglobinuria paroxística «a frigore»
Reacción hemolítica transfusional
Enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN)
Anemia hemolítica inmunomedicamentosa
Hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN)
Anemias hemolíticas adquiridas no inmunes
Hemólisis mecánica
Lesiones del corazón y grandes vasos
Lesiones de pequeños vasos
Hemólisis tóxica
Hemólisis tóxica de origen exógeno
Hemólisis tóxica de origen endógeno
Hemólisis por infecciones o parásitos
Hiperesplenismo
Bibliografía

CONCEPTO Y CLASIFICACIÓN

Las anemias hemolíticas adquiridas, a diferencia de las congénitas, son consecuencia de situaciones adversas que aparecen después del nacimiento y que, de alguna forma, inciden sobre los eritrocitos normales circulantes disminuyendo su viabilidad. Tales situaciones pueden ser de muy diversa índole, aunque la más frecuente en la práctica clínica es la aparición de anticuerpos contra los eritrocitos (anemia hemolítica autoinmune). Para su estudio, las anemias hemolíticas adquiridas se clasifican en dos grandes grupos: las adquiridas de mecanismo inmune y las adquiridas de mecanismo no inmune (tabla 11.1).

TABLA 11.1

Clasificación de las anemias hemolíticas adquiridas

ANEMIAS HEMOLÍTICAS DE MECANISMO INMUNE
Anemias hemolíticas autoinmunes (AHAI)
Por autoanticuerpos calientes
Por autoanticuerpos fríos (crioaglutininas)
Por hemolisina bifásica (Donath-Landsteiner)
Enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN)
Anemias hemolíticas inmunomedicamentosas (AHIM)
Mecanismo del hapteno
Mecanismo del neoantígeno
Mecanismo autoinmune
Anemias hemolíticas transfusionales
Hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN)
ANEMIAS HEMOLÍTICAS DE MECANISMO NO INMUNE
Anemias hemolíticas mecánicas
Anemias hemolíticas por acción de agentes naturales
Anemias hemolíticas por acción de agentes tóxicos y oxidantes
Anemias hemolíticas por acción de gérmenes o parásitos
Anemias hemolíticas por trastorno metabólico o endocrino
Hiperesplenismo

ANEMIAS HEMOLÍTICAS DE MECANISMO INMUNE

Obedecen a la destrucción de los eritrocitos por acción de componentes plasmáticos relacionados con el sistema inmunitario: inmunoglobulinas (autoanticuerpos), complemento o agentes medicamentosos inmunógenos. En todos los casos, el proceso tiene lugar en la membrana del eritrocito, y su resultado es una lesión irreversible de la misma, con lisis eritrocitaria (hemólisis). La hemólisis puede tener lugar en el propio sistema vascular (hemólisis intravascular) o en el sistema mononuclear fagocítico, por eliminación prematura de los eritrocitos lesionados (hemólisis extravascular). Las anemias hemolíticas de mecanismo inmune pueden clasificarse en cinco grupos[1]:

1. Anemia hemolítica autoinmune.
2. Reacción hemolítica postransfusional.
3. Enfermedad hemolítica del recién nacido.
4. Anemia hemolítica inmunomedicamentosa.
5. Hemoglobinuria paroxística nocturna.

La anemia hemolítica autoinmune está producida por *autoanticuerpos* o anticuerpos generados por el organismo contra antígenos propios; en este caso, los presentes en la membrana eritrocitaria. Su desarrollo se atribuye a una alteración funcional del sistema inmunitario, y constituye la causa más frecuente de hemólisis adquirida en la práctica clínica. En la mitad de los casos, aproximadamente, aparece en el curso de una enfermedad inmune o de un síndrome linfoproliferativo.

La anemia hemolítica postransfusional está producida por anticuerpos contra antígenos presentes en la membrana de los eritrocitos de un donante no compatible, administrados mediante la transfusión de sangre.

La enfermedad hemolítica del recién nacido está producida por anticuerpos maternos contra antígenos eritrocitarios del feto, durante el embarazo. Estos anticuerpos se producen contra los antígenos de grupo sanguíneo Rh o ABO, y son causa de intensa hemólisis neonatal (enfermedad hemolítica del recién nacido) a partir de un segundo embarazo de iguales características. Este tipo de incompatibilidad feto-materna sólo se da en madres Rh negativas embarazadas de fetos Rh negativos, y requiere tratamiento profiláctico.

La anemia hemolítica inmunomedicamentosa es de mecanismo complejo, y en ella los antígenos son generados por efecto de medicamentos que, una vez en el organismo, interaccionan con diferentes compuestos o producen efectos diversos que, en último término, desencadenan la producción de anticuerpos capaces de inducir hemólisis.

La hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) obedece a un defecto adquirido de la membrana eritrocitaria por el cual ésta se hace más sensible a la acción lítica del complemento. Se trata, por tanto, de una hemólisis inducida por el complemento normal del plasma, sin concurso de anticuerpos. El defecto de la membrana aparece como consecuencia de mutaciones somáticas de un gen en la célula madre pluripotente. La HPN es, por tanto, una enfermedad clonal que también puede ser causa de aplasia de médula ósea.

Anemia hemolítica autoinmune (AHAI)

Tipos de autoanticuerpos y mecanismo fisiopatológico

La AHAI obedece a la aparición de autoanticuerpos contra antígenos de la membrana eritrocitaria. En el 50%, aproximadamente, de los casos aparece espontáneamente, es decir, sin causa aparente (AHAI idiopática), mientras que en el resto lo hace en el curso de una enfermedad de base (AHAI secundaria). Dado que la AHAI puede aparecer mucho tiempo antes de que lo haga la enfermedad, no debe catalogarse como idiopática hasta que el seguimiento clínico del paciente permita llegar a esta conclusión[2,3]. La expresividad clínica de la AHAI es variable, y se halla relacionada con el mecanismo de la hemólisis que, a su vez, depende del tipo del autoanticuerpo (IgG, IgA, IgM), de su concentración en plasma (titulación) y de si posee o no capacidad para fijar el complemento.

Los autoanticuerpos más frecuentes son de tipo IgG, seguidos del tipo IgM, siendo excepcionales los de tipo IgA o IgD. Para actuar, se fijan a la superficie de la membrana eritrocitaria sensibilizando los eritrocitos y facilitando su eliminación por los macrófagos del sistema retículo endotelial (SRE). Los anticuerpos IgG se fijan a receptores de la membrana de los macrófagos mediante su fragmento Fc, mientras que los anticuerpos IgM carecen de receptores celulares donde fijar su fracción Fc y su acción depende fundamentalmente de la activación del complemento. Una de las características de los autoanticuerpos es que su actividad depende de la temperatura, por lo que pueden clasificarse en tres grandes grupos:

1. *Autoanticuerpos calientes*, con actividad exclusivamente hemolítica a 37 °C.
2. *Autoanticuerpos fríos* o crioaglutininas, con capacidad aglutinante y hemolítica entre 0 y 20 °C.
3. *Autoanticuerpos bifásicos*, que se fijan a la membrana eritrocitaria a baja temperatura y producen hemólisis a temperatura corporal (37 °C). Se conocen como hemolisinas de Donath-Landsteiner.

El mecanismo fisiopatológico de la hemólisis difiere según el tipo de autoanticuerpo implicado. Así, los eritrocitos sensibilizados con autoanticuerpos «calientes» son destruidos principalmente en el bazo y en la médula ósea por eritrofagocitosis (hemólisis extravascular), mientras que los eritrocitos sensibilizados con autoanticuerpos «fríos», dado que fijan la fracción C3b del complemento, son hemolizados en el propio sistema vascular o fagocitados por las células de Kupffer del hígado (hemólisis de predominio intravascular). Este diferente comportamiento de los autoanticuerpos frente a los macrófagos de tejido obedece al diferente mecanismo de interacción con su superficie: la *adherencia opsonínica*, que facilita la interacción con la membrana del macrófago (generalmente del bazo y médula ósea) y el fragmento Fc de la IgG (anti-Rh), y la *adherencia inmune*, en la que la unión entre macrófagos (especialmente células de Kupffer) y los eritrocitos se establece a través de la fracción C3b del complemento (anticuerpos IgM-C3b). Todo ello explica también la diferente respuesta de las AHAI a la esplenectomía, según se trate de anticuerpos «fríos» o «calientes»[4]. Una vez realizada la adherencia entre eritrocitos y macrófagos, se inicia el proceso de fagocitosis que, casi siempre, es parcial, y elimina fragmentos de membrana eritrocitaria, disminuyendo la relación entre la superficie y el volumen eritrocitarios (relación S/V). Ello explica la presencia de esferocitos y microesferocitos circulantes en la AHAI que, debido a su carácter prelítico, son rápidamente eliminados por el bazo[1,2].

El diferente comportamiento clínico de los autoanticuerpos conlleva la necesidad de su tipificación, es decir, la identifi-

cación del tipo, análisis de especificidad y mecanismo de acción (fijación o no del complemento).

AHAI por autoanticuerpos calientes. Está producida por autoanticuerpos tipo IgG que poseen escasa capacidad para activar el complemento (C) y se adhieren intensamente a la superficie eritrocitaria. Del conjunto de AHAI por autoanticuerpos calientes, el 30-40% de los casos son de tipo IgG, el 40-50% de tipo IgG-complemento, y el 10%, aproximadamente, de tipo complemento, exclusivamente, que realiza su acción mediante un fragmento (C3b) proteolítico[3,5]. En todos los casos, existe un predominio de subtipos IgG_1 e IgG_3 que, debido a su carácter «incompleto» o irregular, no producen nunca aglutinación espontánea de los eritrocitos. Su especificidad es prácticamente siempre anti-Rh, y su actividad, aunque se desarrolla a 37 °C, depende de la afinidad por el antígeno eritrocitario, del número de moléculas activas y de la capacidad de fijar el complemento. Su mecanismo de acción es recubrir la superficie de los eritrocitos (opsonización) para facilitar el reconocimiento de los mismos por los macrófagos del bazo, médula ósea e hígado que, debido a ello, los fagocitan. Se trata, por tanto, de una hemólisis extravascular por exacerbación del mecanismo fisiológico de eliminación de eritrocitos viejos. Este reconocimiento se realiza por medio de un receptor presente en los macrofágos que fija el fragmento Fc de la IgG (fig. 11.1). Las formas IgG_3 (que fijan el C3b) poseen mayor potencial hemolítico que las formas IgG_1, por lo que cuando predominan, la actividad hemolítica de los macrófagos es mucho más intensa y también la anemia, que suele instaurarse de forma brusca. La hemólisis por acción del complemento (C) presenta un mecanismo diferente al de la IgG y, aunque éste se fija también a la superficie del eritrocito, actúa directamente sobre la membrana mediante el desarrollo de la «cascada del complemento» y producción de una hemólisis intravascular. Ambos mecanismos, aunque independientes, pueden desarrollarse simultáneamente pero, en general, predomina siempre el mecanismo extravascular sobre el intravascular. Asimismo, la hemólisis no es manifiesta si no existe un mínimo (entre 10 y 100) de moléculas IgG o C3b adheridas a la membrana, mientras que cuando dicho número es muy elevado, la hemólisis es también más intensa porque aumenta la fagocitosis hepática. Existe un subtipo de IgG que actúa en presencia de C3b y que se fija a la superficie eritrocitaria sólo cuando desciende la temperatura corporal (< 36 °C) activando la cascada del complemento cuando ésta aumenta (36-37 °C). Este autoanticuerpo con doble comportamiento (anticuerpo «frío» a bajas temperaturas y «caliente» a la temperatura corporal) se conoce como hemolisina bifásica de Donath-Landsteiner, y tiene especificidad anti-P. Clínicamente, su presencia se manifiesta por una hemólisis intravascular muy intensa o fulminante, con hemoglobinuria (hemoglobinuria paroxística *a frigore*).

La presencia de IgG o C3d sobre la superficie eritrocitaria puede ponerse de manifiesto mediante una antiglobulina polivalente obtenida por inmunización de conejos frente a las proteínas del suero humano, o mezclando anticuerpos monoclonales de ratón, y contiene anticuerpos anti-IgG y anti-C3d. Esta antiglobulina, preparada comercialmente para su uso industrial se conoce como «suero de Coombs», y puede contener también antiglobulinas específicas contra determinadas inmunoglobulinas (IgG, IgA o IgM) o fracciones del complemento (C3d y C4). A diferencia de los autoanticuerpos, producidos por el organismo, la antiglobulina de Coombs es un anticuerpo «completo» y, debido a ello, produce una aglutinación de los eritrocitos cuando se hallan recubiertos por anticuerpos «incompletos» o por el complemento. Ello constituye la base de la prueba diagnóstica conocida como *prueba de Coombs* o de la antiglobulina directa (PAD)[3].

AHAI por autoanticuerpos fríos. Está producida por anticuerpos IgM que siempre fijan el complemento (C3b). Se denominan anticuerpos «fríos» porque sólo se fijan a los eritrocitos a una temperatura inferior a la corporal (4-20 °C). Al igual que los anticuerpos IgG también se adhieren (aunque con menor intensidad) a la superficie del eritrocito. Debido a esta fijación débil, al lavar los eritrocitos suelen desprenderse y desaparecen de la superficie en la que sólo queda como único exponente la fracción C3b del complemento. A dife-

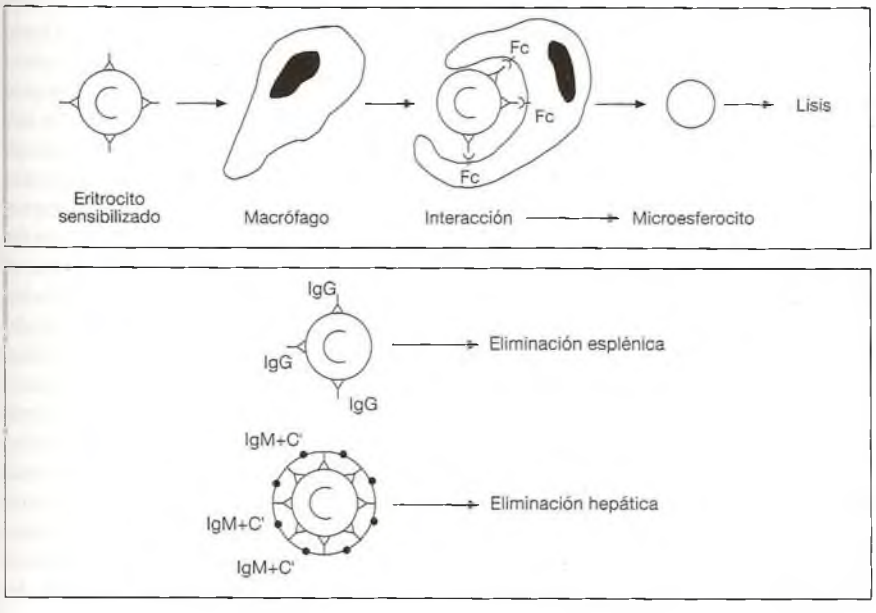


Figura 11.1. Esquema del mecanismo de acción de los macrófagos en la AHAI. Los eritrocitos recubiertos por anticuerpos IgG son preferentemente eliminados por el bazo, mientras que cuando se hallan recubiertos por anticuerpos IgM y complemento (C') son eliminados por los macrófagos del hígado (células de Kupffer).

rencia de los anticuerpos IgG, son «completos» o regulares, es decir, producen aglutinación espontánea de los eritrocitos. Debido a ello, se les conoce también con el nombre de *crioaglutininas*, y su especificidad es, casi siempre, anti-I o anti-i. Al actuar en presencia del complemento, producen siempre una hemólisis intravascular. La aparición de autoanticuerpos IgM es imprevisible, aunque con relativa frecuencia se asocia con la existencia de enfermedades que, de alguna forma, afectan al sistema inmunitario. Un ejemplo de ello son los síndromes linfoproliferativos crónicos con presencia de IgM clonal en el plasma, que, por ello, pueden ir acompañados de anemia hemolítica crónica. Otro ejemplo lo constituyen ciertas infecciones víricas, como la mononucleosis infecciosa producida por el virus de Epstein-Barr (VEB) o la neumonía por *Mycoplasma pneumoniae*, en la que la aparición de un aumento en suero de IgM policlonal puede ir acompañada de una anemia hemolítica aguda y, generalmente, muy intensa.

Etiopatogenia

Independientemente de la causa que pueda inducir a la aparición de un proceso autoinmune, éste parece ser consecuencia de una desviación de la tolerancia inmunológica o la pérdida de la capacidad supresora de los linfocitos T para regular la respuesta inmune.

La *tolerancia inmunológica* es un fenómeno por el cual el organismo pierde la capacidad para formar anticuerpos contra todos aquellos antígenos capaces de ser codificados genéticamente durante su período embrionario. Durante mucho tiempo, ésta fue la única teoría para explicar que, en determinado momento, el organismo pudiera generar anticuerpos contra sus propios antígenos (autoanticuerpos), de forma similar a como lo hace habitualmente frente a antígenos extraños (aloanticuerpos). En la actualidad, parece ser que la teoría de la inmunorregulación realizada por los propios linfocitos va adquiriendo una importancia cada vez mayor. El hecho de que ciertos medicamentos con potente actividad inmunosupresora (ciclosporina) puedan inducir la aparición de un proceso autoinmune es una prueba de ello. Así, en el ser humano, los linfocitos T están formados por dos poblaciones básicas: colaboradora-inductora (CD4+), que activa los linfocitos B, y supresora-citotóxica (CD8+) que la disminuye. Dentro de la población CD4+ existe una subpoblación capaz de regular la actividad de los linfocitos T CD8+ (subpoblación CD4+ inductora a la supresión), cuyo antígeno específico de membrana es el CD45R. En este contexto, el desarrollo de un proceso autoinmune podría venir desencadenado por un trastorno de la inmunorregulación por alteración funcional de los linfocitos T CD8+ o de la subpoblación T CD45R+, o por cualquier otro mecanismo relacionado con la actividad de estas subpoblaciones linfocitarias[5,6].

Junto con el trastorno inmunorregulador, también es posible la aparición de autoanticuerpos sin necesidad de que respondan a un antígeno determinado (anticuerpos antígeno-independientes). Así sucede en los casos de *activación policlonal de linfocitos B* acompañada de intensa síntesis de inmunoglobulinas con actividad de autoanticuerpos, si casualmente encuentran el antígeno apropiado. Esta situación parece haberse demostrado en el lupus eritematoso (LE), en la trombocitopenia inmune (síndrome de Evans), en la enfermedad de rechazo contra el huésped después del trasplante de médula ósea (excesiva producción de interleucina-6 por los linfocitos T), en la parasitosis, la ingesta de ciertos medicamentos o en el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida). En el curso de los síndromes linfoproliferativos (leucemia linfática crónica o linfomas de estirpe B) es probable que la producción de autoanticuerpos tenga un mecanismo multifactorial. Así, en la leucemia linfática crónica (LLC), la población linfoide predominante (CD5+) sólo tiene capacidad para producir IgM monoclonal, por lo que en caso de anemia hemolítica autoinmune por autoanticuerpos IgG, el mecanismo debe situarse en un trastorno inmunorregulador secundario a la neoplasia. Por el contrario, cuando se trata de aglutininas frías de carácter clonal (IgM), lo más probable es que sean producidas por las propias células malignas. El mecanismo de la producción de anticuerpos frente a agentes infecciosos (*T. pallidum* de la sífilis o *M. pneumoniae*), podría tener su explicación a través de un fenómeno de inducción a la autoinmunización por *mimetismo antigénico*.

Manifestaciones clínicas y diagnóstico

Una de las características más destacadas de la AHAI es la variedad de su comportamiento clínico ya que, junto con formas agudas, generalmente graves, pueden observarse formas crónicas, insidiosas y muchas veces difíciles de diagnosticar[7]. En general, el cuadro clínico de una AHAI se caracteriza por un síndrome hemolítico (agudo o crónico) cuya intensidad y evolución depende de la naturaleza del autoanticuerpo implicado y de su concentración en el plasma. Aunque la esplenomegalia es un hallazgo relativamente frecuente en este tipo de anemia hemolítica, debe señalarse su frecuente asociación a hepatomegalia, lo que puede ser un dato clínicamente útil para diferenciarla de otras anemias hemolíticas en las que sólo se observa esplenomegalia. La presencia de adenopatías en el curso de una AHAI constituye un signo eventualmente orientativo sobre el posible origen del proceso: infeccioso (vírico) o tumoral (linfoma). En la práctica, pueden considerarse tres formas clínicas de AHAI (tabla 11.2): *a*) AHAI común (por autoanticuerpos calientes); *b*) enfermedad de las crioaglutininas (por autoanticuerpos fríos), y *c*) hemoglobinuria paroxística *a frigore* (por hemolisina bifásica).

Anemia hemolítica autoinmune (AHAI) común

Constituye la forma de AHAI más frecuente ya que se observa, aproximadamente, en el 75% del total de casos, y su incidencia estimada es de unos 10 casos por millón de personas. Presenta una predilección especial por el sexo femenino, por lo que suele observarse en mujeres de más de 40 años sin enfermedad de base demostrable en la mitad de los casos (AHAI idiopática), aunque puede existir cierta predisposición familiar a padecer enfermedades autoinmunes. La forma secundaria de AHAI aparece durante el curso evolutivo de enfermedades diversas, generalmente de base inmunitaria, o asociada con neoplasias (tabla 11.3). Entre las enfermedades con base inmunitaria destacan los síndromes linfoproliferativos, el lupus eritematoso (LE), las conectivopatías no debidas a LE (dermatomiositis, periarteritis nudosa, esclerodermia y otras), inmunopatías diversas (artritis reumatoide, síndrome de Sjögren, miastenia *gravis*), y enfermedades con componente inmune (anemia perniciosa, púrpura trombocitopénica idiopática, colitis ulcerosa, hipogammaglobulinemia y síndrome de la inmunodeficiencia adquirida). Las neoplasias son fundamentalmente carcinomas, entre los que destacan el quiste dermoide de ovario y el teratoma. La aparición de

TABLA 11.2

Clasificación de las anemias hemolíticas autoinmunes

ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE COMÚN
(anti-IgG «calientes»)
Idiopática
Secundaria
Síndromes linfoproliferativos
Conectivopatías
Enfermedades diversas
ENFERMEDAD POR CRIOAGLUTININAS
(anti-IgM «fríos» C3b)
Idiopática
Secundaria
Síndromes linfoproliferativos
Infecciones
M. pneumoniae
Mononucleosis infecciosa
Otras
HEMOGLOBINURIA PAROXÍSTICA «*A FRIGORE*»
(anti-IgG «bifásicos»)
Asociada a sífilis terciaria
Postinfecciosa (virus)

AHAI durante la primera infancia es un fenómeno bastante raro, y casi siempre existe un antecedente de infección viral. Otra causa que puede favorecer la aparición de AHAI es el embarazo, aunque en mucha menor frecuencia que las situaciones anteriormente citadas.

Manifestaciones clínicas. En la mayoría de los casos, el síndrome hemolítico se caracteriza por una anemia de inicio insidioso o poco manifiesto y de carácter crónico. En aproximadamente el 82% de los casos, la anemia se asocia con esplenomegalia palpable (2-6 cm), y en el 45%, con hepatomegalia. La existencia de un síndrome adenopático en el curso de la AHAI es más raro, aunque puede observarse en, aproximadamente, el 34% de casos[7]. Muchas veces esta sintomatología suele confundirse con la de la enfermedad de base (adenopatías, fiebre, hipertensión, insuficiencia renal, petequias, equimosis, entre otras). En un número menor de casos, el inicio del cuadro clínico es agudo, con aparición de anemia intensa y reticulocitosis (> 50%). En estos casos la observación de la morfología de la extensión sanguínea muestra policromasia, esferocitosis, esquistocitosis y, ocasionalmente, eritroblastos circulantes. A veces, pueden observarse también granulocitos neutrófilos o monocitos con eritrofagocitosis (fig. 11.2). Junto con la anemia, suele observarse leucocitosis de intensidad variable con plaquetas normales, pero cuando la AHAI común va acompañada de plaquetopenia inmune, se denomina Síndrome de Evans[8]. El examen morfológico de la médula ósea muestra, en todos los casos, un patrón de hiperregeneración eritroblástica característico de proceso hemolítico y, más rara vez, rasgos megaloblásticos por déficit latente de folato. El estudio bioquímico del plasma presenta los indicadores propios de hemólisis, siendo el aumento de la concentración de bilirrubina a expensas de su fracción indirecta el rasgo más constante.

TABLA 11.3

Enfermedades que pueden asociarse con una AHAI común

Síndromes linfoproliferativos
Leucemia linfática crónica (LLC)
Macroglobulinemia de Waldenström
Mieloma múltiple
Micosis fungoide
Linfopatía angioinmunoblástica (linfoma T)
Enfermedad de Hodgkin
Enfermedades autoinmunes y conectivopatías
Lupus eritematoso sistémico (LES)
Artritis reumatoide (AR)
Poliarteritis nudosa (PAN)
Esclerodermia
Síndrome de Sjögren
Miastenia *gravis*
Dermatomiositis
Colitis ulcerosa
Síndrome de Evans (AHAI con trombopenia)
Tiroiditis de Hashimoto
Enfermedad celíaca
Citopenia inmune
Anemia perniciosa
Neoplasias
Timoma
Carcinoma de ovario
Hipernefroma
Carcinoma broncopulmonar
Cáncer gástrico
Infecciones
Bacterias
Virus
Hongos y parásitos
Otras enfermedades
Enfermedad de Kawasaki
Mielofibrosis idiopática
Quistes de ovario
Sida y otras inmunodeficiencias
Síndrome de Guillain-Barré
Cirrosis biliar primaria
Mioma uterino

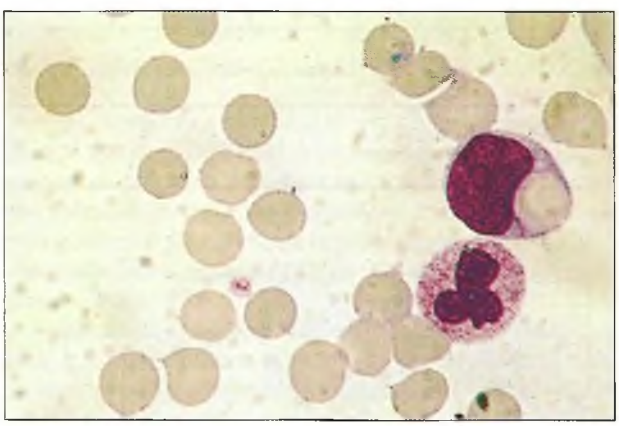


Figura 11.2. Monocito con eritrofagocitosis en un paciente con anemia hemolítica autoinmune (×800).

Diagnóstico. La confirmación diagnóstica de AHAI exige siempre la realización de la prueba de la antiglobulina directa (PAD), o prueba de Coombs directa, para demostrar la presencia de autoanticuerpos adheridos a la superficie eritrocitaria. La positividad de la PAD confirma la sensibilización de los eritrocitos por el autoanticuerpo cuya naturaleza (IgG, IgG + C3b o C3b) puede conocerse fácilmente mediante la antiglobulina específica correspondiente[9]. Para realizar la PAD basta mezclar los eritrocitos del paciente con suero de Coombs; si existen autoanticuerpos y/o complemento (C3b) adheridos a la superficie de los eritrocitos, se producirá una aglutinación muy visible (PAD positiva) (fig. 11.3). Otra forma de poner de manifiesto la existencia de anticuerpos contra los eritrocitos, esta vez circulantes en el plasma del paciente, es mediante la prueba de la antiglobulina indirecta (PAI), consistente en sensibilizar primero los eritrocitos mediante incubación en el propio plasma y realizar una PAD. Si existen autoanticuerpos circulantes, se fijan a la membrana eritrocitaria durante la fase de incubación, y se ponen de manifiesto mediante la PAD.

La positividad de la PAD es variable, y depende de la concentración de moléculas de IgG o de C3 adheridas a la superficie eritrocitaria. El método convencional empleando reactivos comerciales y procedimiento manual permite detectar entre 300 y 500 moléculas de IgG, por lo que si existen entre 100 y 200 moléculas (suficientes para producir hemólisis), el resultado de la prueba puede ser dudoso, positivo débil o claramente negativo[10,11]. Por ello, aunque en general la ausencia de aglutinación debe ser considerada como ausencia de autoanticuerpo, es posible que éste se halle a una concentración inferior al límite de detección de la prueba. Así, mientras que en la AHAI, clínica y hematológicamente bien definida, la PAD es positiva en más del 95% de casos, existe entre 1 y 5% de casos en los que resulta negativa. En estos casos, hay que extremar todos los procedimientos diagnósticos a nuestro alcance y, en último término, considerar la existencia de AHAI Coombs negativa[12]. La apreciación de respuesta a la administración de pequeñas dosis de cortisona puede resultar aquí especialmente útil para realizar el diagnóstico. Una alternativa consiste en emplear métodos de detección algo más sensibles como, por ejemplo, los sistemas automatizados, las técnicas de enzimoinmunoanálisis (EIA) o la incubación de los eritrocitos en presencia de anti-Ig marcada con fosfatasa alcalina, que puede aumentar la sensibilidad del procedimiento a valores próximos a las 100 moléculas de autoanticuerpo fijadas[13].

Tratamiento. El tratamiento de la AHAI común depende de su intensidad y de si se halla o no asociada con una enferme-

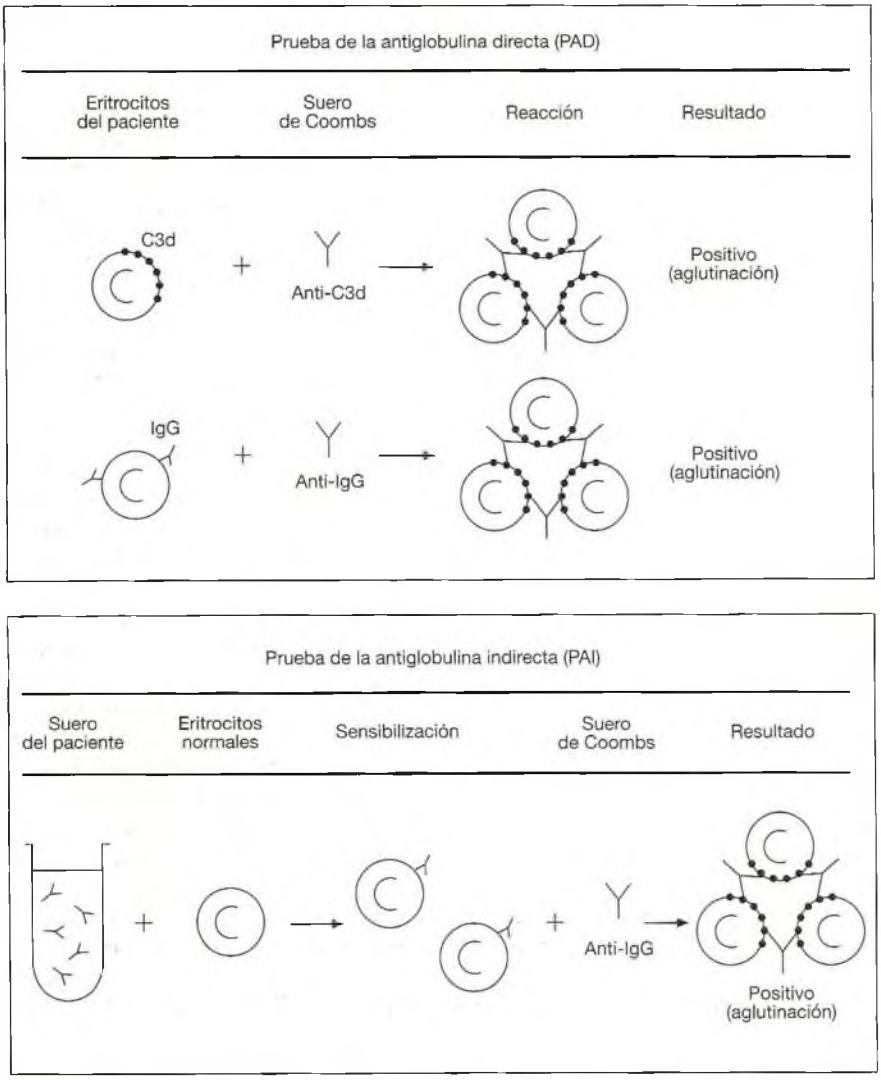


Figura 11.3. Fundamento de la prueba de Coombs. *Arriba*: prueba de la antiglobulina directa (PAD). *Abajo*: prueba de la antiglobulina indirecta (PAI).

dad de base. En la AHAI secundaria, es preciso considerar, de manera preferente, la enfermedad de base, aunque parece un hecho bien demostrado que, una vez iniciado el síndrome hemolítico, su evolución clínica sigue un curso propio e independiente al de la misma. En la AHAI idiopática, el tratamiento es más empírico por cuanto se basa, de manera exclusiva, en las características clínicas del síndrome hemolítico, que dependen, a su vez, de la naturaleza y la especificidad de los autoanticuerpos. En cualquier caso, el tratamiento de la AHAI por anticuerpos calientes tiene dos vertientes: sintomático y etiológico.

El *tratamiento sintomático* consiste en la transfusión de concentrados de eritrocitos cuya aplicación debe limitarse sólo a aquellos casos en los que la gravedad de la anemia lo hace imprescindible[1,2]. Así sucede en pacientes tratados con corticoides o con inmunosupresores que no responden y mantienen concentraciones de hemoglobina por debajo de los valores críticos. No obstante, debe tenerse siempre en cuenta que la transfusión es un tratamiento paliativo que sirve para preparar o mantener al paciente en condiciones para ser tratado adecuadamente. Aunque los problemas de tipaje y práctica de reacciones cruzadas en la AHAI por anticuerpos calientes distan mucho de los que pueden observarse en la AHAI por anticuerpos fríos, a veces los resultados del tipaje ABO o Rh son poco fiables debido a la existencia de fenómenos de aglutinación espontánea. También puede falsear la realización de las pruebas cruzadas la presencia de títulos elevados de autoanticuerpos circulantes. Por ello, en caso de duda, es aconsejable trabajar con eluidos y realizar siempre las pruebas por duplicado. Si a pesar de ello los resultados de las pruebas serológicas de compatibilidad son poco fiables, la administración de concentrados de eritrocitos debe hacerse con precaución.

El *tratamiento etiológico* tiene como objetivo reducir los factores que intervienen en la fisiopatología de la hemólisis. Para ello, pueden emplearse tres procedimientos diferentes: corticoterapia, esplenectomía o administración de inmunosupresores.

La *corticoterapia* constituye el tratamiento de elección en la AHAI común por autoanticuerpos calientes ya que con ello se consigue la remisión del proceso en aproximadamente el 80% de casos idiopáticos y en el 50% de los secundarios[14]. El efecto principal de los glucocorticoides es bloquear la interacción macrófago-eritrocito sensibilizado e impedir el proceso de la fagocitosis. En parte, y a través de su acción sobre el sistema linfoide, reduce también el número de autoanticuerpos circulantes y, por tanto, su número fijado a los eritrocitos. En general, se emplea la prednisona (Dacortin®) que se administra en dosis elevadas (aproximadamente, 1 mg/kg/día) durante varios días (en general, tres o cuatro, con un máximo de siete), hasta que la hemoglobina alcanza un valor de 110 g/L. Si no se aprecia este aumento de Hb, la dosis inicial de prednisona debe administrarse durante un mínimo de 3 semanas antes de considerarla ineficaz. A continuación, la dosis se reduce de forma progresiva hasta el mínimo necesario para mantener el estado de remisión. Una vez restablecida la cifra de hemoglobina, la reducción de la administración de corticoides debe ser progresiva hasta conseguir, a ser posible, el cese total de la misma. Con todo, esto sólo es posible cuando los enfermos mantienen un buen estado de remisión, ya que si no es así, la reducción de la dosis de corticoides va acompañada de una reactivación de la actividad hemolítica que precisa la administración de una dosis de recuerdo o mantenimiento de, aproximadamente, 15 mg/día. En caso de que el tratamiento inicial (1 mg/kg/día) sea ineficaz o de que se precisen dosis de mantenimiento superiores a 15 mg/día, puede ensayarse la administración de andrógenos sintéticos de acción atenuada o plantear la práctica de una esplenectomía.

La *esplenectomía* es el tratamiento de elección en los casos resistentes a la corticoterapia[3]. Con ella se consigue la remisión completa en, aproximadamente, el 50% de AHAI idiopáticas y en el 30% de las formas secundarias, pero sólo debe realizarse en las condiciones citadas anteriormente. La práctica de una esplenectomía debe ir precedida de un estudio isotópico que demuestre la existencia de secuestro esplénico. Así, se ha demostrado que el efecto de la esplenectomía es favorable en el 92% de casos cuando el cociente captación esplénica/captación hepática es superior a 2, y sólo en el 42% cuando es inferior a esta cifra. En caso de que se sospeche la existencia de un síndrome linfoproliferativo como causa de la AHAI, puede aprovecharse la esplenectomía para realizar un estudio histológico del bazo, así como para observar el estado de los ganglios linfáticos abdominales.

Los *inmunosupresores* constituyen la terapéutica alternativa ante el fracaso de la corticoterapia y la esplenectomía[15]. Con todo, no debe olvidarse que, a la vez que mielosupresores, son mielotóxicos, por lo que deben seleccionarse siempre de forma que la actividad inmunosupresora sea siempre superior a la mielotóxica. Así, los inmunosupresores de mayor uso son las tiopurinas (6-mercaptopurina y azatioprina), el clorambucilo y la ciclofosfamida. Los más empleados en la práctica clínica son la azatioprina (2-3 mg/kg/día) y el clorambucilo (2 a 3 mg/kg/día), que debe administrarse siempre junto con prednisona (1 mg/kg/día). Tanto el fármaco elegido como la dosis y duración de la administración pueden variar ampliamente de un caso a otro, pero siempre de acuerdo con la diferente respuesta que puede presentar el paciente. Por ello, la administración de inmunosupresores debe tantearse hasta encontrar una dosis adecuada que consiga remontar la cifra de hemoglobina, y debe suprimirse cuando la cifra de leucocitos descienda por debajo de $2 \times 10^9/L$[16].

Otras medidas terapéuticas. En algunos pacientes dependientes de la corticoterapia, resistentes a otras terapéuticas o con púrpura trombocitopénica asociada a AHAI se ha ensayado la administración de gammaglobulina endovenosa en dosis de 400 mg/kg/día durante un mínimo de 5 días, si bien los resultados nunca han sido tan espectaculares como los conseguidos en la trombocitopenia inmune o en la púrpura trombocitopénica idiopática[17]. Medicamentos en un inicio prometedores como por ejemplo el danazol, han quedado en un lugar anecdótico debido a su escaso efecto terapéutico en este tipo de enfermedad autoinmune[18]. Finalmente, en la enfermedad de las crioaglutininas, con títulos muy elevados del autoanticuerpo y anemia intensa, puede ensayarse la plasmaféresis, siempre que la sangre perfundida se haya calentado previamente a 37 °C en un sistema especialmente ideado para ello[19].

En resumen, independientemente de la enfermedad de base que pueda inducir la aparición de una AHAI, el tratamiento de esta enfermedad es complejo y depende de muchos factores, entre los que destacan el comportamiento clínico, la gravedad del cuadro hemolítico y la naturaleza del autoanticuerpo.

Anemia hemolítica autoinmune (AHAI) por anticuerpos «fríos»

La presencia de anticuerpos «fríos» circulantes o crioaglutininas es un fenómeno inespecífico que puede observarse no sólo en personas sanas sino también en un número elevado de enfermedades, como ciertas infecciones víricas (mononucleosis infecciosa), cirrosis hepática y ciertos síndromes linfoproliferativos crónicos (SLPC), sin que ello signifique la existencia de AHAI. Sólo la demostración de síndrome hemolítico permite establecer el diagnóstico.

Manifestaciones clínicas. La AHAI por crioaglutininas constituye, al igual que la AHAI común, un síndrome clínico polimorfo que puede presentarse bajo dos formas clínicas: crónica y aguda transitoria (tabla 11.4). La *forma crónica* es la más frecuente, y aparece preferentemente a partir de los 70 años. Esta forma de AHAI por «autoanticuerpos fríos» se conoce también como *enfermedad por crioaglutininas*, y puede aparecer sin causa aparente o enfermedad de base (idiopática), o acompañando a neoplasias, en especial del sistema linfoide B y carcinomas metastásicos. Entre las neoplasias del sistema linfoide B destacan los linfomas linfoplasmocíticos (inmunocitomas), la leucemia linfática crónica (LLC-B) y la macroglobulinemia de Waldenström (MGW). Aunque la coexistencia de gammapatía monoclonal (casi siempre tipo IgM κ o biclonal IgM/IgG) es característica de la MGW, la enfermedad por crioaglutininas secundaria a síndromes linfoproliferativos crónicos (SLPC) suele ir acompañada de la expansión clonal (banda uniforme a la electroforesis) de una (o dos) inmunoglobulinas plasmáticas, así como también de alteraciones cromosómicas como, por ejemplo, las trisomías 3 y 12 o el cariotipo 48,XX,+3,+12, observado en, aproximadamente, el 40% de estos pacientes[20]. Las neoplasias no hematológicas que con mayor frecuencia se asocian con enfermedad por crioaglutininas son el carcinoma pulmonar, el adenocarcinoma adrenal metastásico o metastásico de colon y el tumor mixto de parótida. La forma crónica de AHAI se caracteriza por una anemia moderada con ictericia y esplenomegalia (síndrome hemolítico), que se mantiene relativamente estable durante largos períodos de tiempo[7]. Ocasionalmente, y cuando el paciente se expone a ambientes fríos, pueden aparecer crisis de hemólisis aguda intermitente con hemoglobinuria y acrocianosis o cianosis de las extremidades distales (dedos de pies y manos, nariz y orejas, principalmente) acompañada de signos inflamatorios y dolor muy intenso. La acrocianosis obedece a la aglutinación de los eritrocitos en la luz de los vasos superficiales de pequeño calibre por efecto de las crioaglutininas. Aunque la acrocianosis es un fenómeno reversible con el calor, una exposición excesiva al frío puede producir necrosis cutánea limitada. Junto a este trastorno circulatorio, la exposición al frío facilita la actividad hemolizante de las crioaglutininas, que desencadenan la cascada del complemento e inician una crisis hemolítica. Por ello, se recomienda a estos enfermos que habiten en climas cálidos o templados en los que no sea posible la exposición corporal a las bajas temperaturas del medio ambiente.

La *forma aguda transitoria* es más propia de niños y adultos jóvenes y, a diferencia de la forma crónica, aparece siempre inmediatamente después de una infección vírica, casi siempre debida a *M. pneumoniae* (neumonía atípica) o al virus de Epstein-Barr (mononucleosis infecciosa), aunque puede hacerlo después de una infección por el virus A de la gripe, citomegalovirus o listeriosis. Clínicamente, se caracteriza por un síndrome hemolítico agudo e intenso de carácter intravascular, con hemoglobinuria, fiebre, diarrea, vómitos, cefaleas y, ocasionalmente, shock hipovolémico. Este cuadro clínico, pese a su aparatosidad, es autolimitado y casi siempre evoluciona espontáneamente hacia la remisión completa en poco tiempo. A diferencia de la forma crónica de AHAI, la forma aguda va acompañada de un marcado aumento de las inmunoglobulinas, pero éstas tienen siempre carácter policlonal, y es frecuente en ambos casos observar también un descenso de la tasa de complemento sérico por hiperconsumo[7,13].

TABLA 11.4

Formas clínicas de la enfermedad por crioaglutininas

FORMA AGUDA TRANSITORIA (crioaglutinina policlonal)
Mycoplasma pneumoniae
Mononucleosis infecciosa
Infección por citomegalovirus
Paperas
Listeriosis
Endocarditis bacteriana subaguda
Sífilis
Tripanosomiasis
Paludismo
Eosinofilia tropical
Conectivopatías
Enfermedades inmunes
Linfopatía angioinmunoblástica (linfoma T)
FORMA CRÓNICA (crioaglutinina monoclonal)
Enfermedad por crioaglutininas
Macroglobulinemia de Waldenström
Síndromes linfoproliferativos crónicos (LLC)
Linfomas
Sarcoma de Kaposi
Mieloma
Enfermedades no hematológicas
Mycoplasma pneumoniae

Diagnóstico. El diagnóstico de AHAI por crioaglutininas puede sospecharse ante el gran aumento de la VSG y la aglutinación espontánea de los eritrocitos en la extensión de sangre, por lo que se disponen formando «pilas de monedas» (fig. 11.4). Un dato muy característico y orientativo desde el mismo momento de la extracción sanguínea es la aglutinación espontánea de los eritrocitos, que desaparece cuando la sangre se incuba a 37 °C[9]. Este fenómeno también es el responsable de los errores de recuento de eritrocitos que aparecen al emplear equipos automáticos para realizar el hemograma. Estos errores consisten en una falsa disminución de la concentración de eritrocitos, con gran aumento del VCM (> 110 fL) y CCMH (> 460 g/L). Este valor de concentración de eritrocitos no se correlaciona con el hematocrito ni con la concentración de hemoglobina, que se hallan excesivamente elevados. Este fenómeno obedece a que en los sistemas basados en la impedancia, cuando existen crioaglutininas plasmáticas en exceso, los eritrocitos se aglutinan y pasan varios a la vez por el orificio capilar, lo que reduce el recuento y aumen-

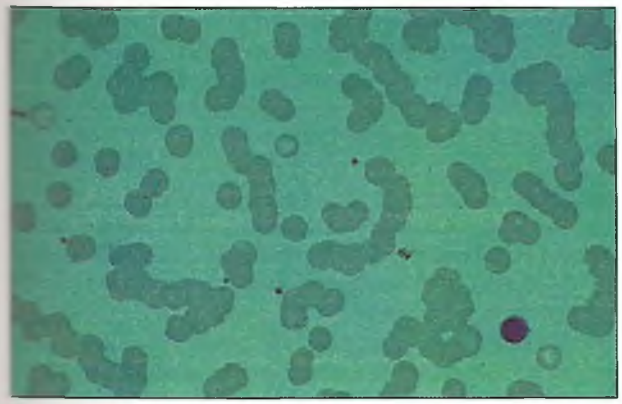


Figura 11.4. Examen morfológico de sangre periférica en un paciente joven con anemia hemolítica por crioaglutininas aparecida en el curso de una mononucleosis infecciosa (infección por el virus EB). Obsérvese la aglutinación de los eritrocitos formando imágenes que recuerdan «pilas de monedas».

ta el VCM. Este artefacto desaparece cuando se realiza el recuento previa incubación de la sangre durante 5 minutos a 37 °C. El diagnóstico de la enfermedad se basa esencialmente en la determinación del título de crioaglutininas en suero que, en general, es muy elevado (> $1/10^5$) y en la positividad de la PAD. A diferencia de la AHAI por anticuerpos «calientes» (IgG), al tratarse de una AHAI por autoanticuerpos «fríos» (IgM + C3b), la IgM desaparece de la superficie eritrocitaria con el lavado, de forma que sólo queda la fracción C3b, causante de la intensa aglutinación eritrocitaria cuando se añade la antiglobulina polivalente.

Tratamiento. En caso de forma crónica o enfermedad por crioaglutininas, y dada la escasa intensidad de la anemia, el mejor tratamiento es el preventivo, evitando en lo posible la exposición al frío. Si existe expresividad clínica manifiesta, puede ensayarse la terapéutica con inmunosupresores en dosis bajas y adaptadas a la respuesta del paciente. Éste constituye, de hecho, el único tratamiento eficaz en este tipo de AHAI, ya que la administración de corticoides o la esplenectomía carecen aquí de efecto terapéutico[21]. Diversos estudios aconsejan iniciar el tratamiento con clorambucilo en dosis de 2-4 mg/día, e ir aumentándolas en 2 mg cada 2 meses hasta observar el efecto deseado. Otra opción es administrar ciclofosfamida (250 mg/día) y prednisona (100 mg al día) durante 4 días cada 2 o 3 semanas. Estudios más recientes demuestran una buena respuesta a la administración de interferón alfa. Afortunadamente para los pacientes con enfermedad por crioaglutininas, casi nunca se requiere transfusión, ya que existen importantes problemas técnicos para el tipaje de grupos sanguíneos y la realización de las pruebas cruzadas. Por un lado, la presencia del autoanticuerpo adherido a la superficie de los eritrocitos, al facilitar la aglutinación espontánea, hace poco fiable la determinación tanto del fenotipo ABO como del grupo Rh. Igualmente, la presencia del autoanticuerpo libre en el suero, al estar dirigido contra antígenos muy frecuentes, es causa de que las pruebas cruzadas sean positivas y resulte prácticamente imposible encontrar sangre compatible. Además, este autoanticuerpo libre puede enmascarar la presencia de un aloanticuerpo. Por todo ello, las determinaciones serológicas deben realizarse con sumo cuidado y siempre a 37 °C para minimizar el efecto de la crioaglutinina. Igualmente, las transfusiones en enfermos con AHAI implican un alto riesgo de reacciones postransfusionales. Así, la administración de sangre a estos enfermos debe hacerse con gran precaución y, a ser posible, con eritrocitos isogrupo ABO y Rh[1]. La sistemática recomendada se basa en dos criterios: *a*) transfusión muy lenta de pequeñas cantidades de sangre (100 mL de concentrado de eritrocitos, aproximadamente) dos veces por día, y controlar la respuesta, y *b*) transfusión de sangre calentada a 37 °C en estrictas condiciones de control de temperatura. En caso de forma aguda, su carácter autolimitado y transitorio desaconseja la puesta en práctica de tratamiento alguno. Si la intensidad de la anemia lo aconseja puede practicarse una transfusión de concentrados de eritrocitos o una plasmaféresis.

Hemoglobinuria paroxística «*a frigore*»

La AHAI debida a la criohemolisina bifásica de Donath-Landsteiner (D-L) constituye un síndrome hemolítico agudo que se conoce con el nombre de hemoglobinuria paroxística «*a frigore*» (HPF). Esta enfermedad puede aparecer a cualquier edad, y aunque clásicamente se ha considerado ligada a la sífilis terciaria, se ha observado también en el curso de otras infecciones, especialmente víricas, como gripe, rubéola, paperas, varicela o mononucleosis infecciosa[22]. El trastorno se inicia siempre algunas horas después de la exposición al frío (exposición corporal, parcial o total, ingesta de bebidas muy frías u otros mecanismos), con la aparición de ictericia, fiebre, cefalea, dolor lumbar y/o abdominal, calambres musculares y emisión de orinas oscuras. El diagnóstico se basa fundamentalmente en este cuadro clínico, que se acompaña de hemoglobinemia (100-200 mg/dL), hemoglobinuria y presencia de la criohemolisina (anticuerpo de D-L) en suero. Los exámenes generales de laboratorio presentan todos los componentes de su síndrome hemolítico, y el examen de sangre periférica muestra una intensa alteración morfológica de los eritrocitos, con presencia de esferocitos, eritroblastos, anisocitosis, poiquilocitosis, policromasia y eritrofagocitosis neutrofílica.

El *tratamiento* de este tipo de AHAI es casi siempre de soporte ya que, independientemente de su estrecha relación con el frío, es un proceso autolimitado y que regresa rápidamente con sólo calentar al paciente[23].

Finalmente, el pronóstico de la HPF es en general bueno, ya que las crisis hemolíticas son autolimitadas y, en adelante, basta con mantener al enfermo alejado de ambientes fríos. En caso de que aparezca asociada con sífilis, la curación de ésta implica la desaparición de las crisis hemolíticas.

Reacción hemolítica transfusional

Toda transfusión entraña el riesgo de provocar diversos efectos adversos en el receptor, los cuales pueden llegar a ser graves e incluso potencialmente mortales. La mayoría de ellos se manifiestan durante la transfusión o poco tiempo después, y se conocen con la denominación genérica de *reacciones transfusionales*. Otros, como la cirrosis posthepatítica, pueden tardar años en declararse[24].

La *hemólisis transfusional inmediata* es la complicación más temible de la transfusión sanguínea. Consiste en la destrucción de los eritrocitos transfundidos por anticuerpos presentes en el plasma del receptor, y va acompañada de la activación de los mediadores de la inflamación y la coagulación. La

forma más grave de hemólisis transfusional inmediata obedece, prácticamente siempre, a una incompatibilidad en el sistema ABO, y cursa con hemólisis intravascular, shock, coagulación intravascular diseminada (CID) e insuficiencia renal aguda. Clínicamente, se manifiesta por fiebre de aparición brusca, escalofríos, dolor lumbar y abdominal, opresión precordial, disnea, vómitos y diarreas. Casi siempre existe hemoglobinuria (orinas), lo cual constituye una manifestación de la hemólisis intravascular masiva. Una hemoglobinuria masiva puede ir acompañada de anuria, hipotensión y complicaciones hemorrágicas características de la CID. Si este cuadro no se evita a tiempo mediante el cese inmediato de la transfusión, puede acabar con la vida del enfermo. En los pacientes sometidos a anestesia, los síntomas precoces pueden pasar desapercibidos, siendo el primer signo de incompatibilidad la hipotensión o la hemorragia difusa en el campo operatorio. La incompatibilidad en el sistema ABO se debe casi siempre a errores en la identificación de las muestras extraídas para las pruebas de compatibilidad o del paciente en el momento de la transfusión. El riesgo de cometer estos errores es particularmente elevado en los Servicios de Urgencias, en los que es frecuente la transfusión simultánea a varios pacientes en situación crítica. La medida aislada más eficaz para prevenir la incompatibilidad ABO es la realización de una última comprobación del grupo del paciente y de la unidad de sangre en la cabecera del enfermo, justo antes de iniciar la transfusión. El tratamiento se dirige a la corrección del shock y a la prevención de la insuficiencia renal. Es imprescindible mantener una buena hidratación y un flujo urinario superior a 100 mL/h, lo que se consigue habitualmente con manitol en perfusión continua y furosemida. La incompatibilidad por anticuerpos frente a otros grupos sanguíneos diferentes a los del sistema ABO también provoca una hemólisis, de predominio extravascular, pero sin hemoglobinuria ni la gravedad del cuadro anterior.

La *hemólisis transfusional retardada* se produce en individuos inmunizados por una transfusión previa cuando se someten a una nueva transfusión con eritrocitos incompatibles. Estos individuos suelen tener concentraciones del anticuerpo tan pequeñas que, generalmente, son indetectables con las pruebas habituales de compatibilidad. En este caso, se produce una respuesta con rápido aumento del título del anticuerpo y lisis de los eritrocitos incompatibles. Aunque los casos típicos se caracterizan por una caída inexplicable de la concentración de hemoglobina a los 4-10 días de la transfusión, acompañada de ictericia y fiebre, lo habitual es que la hemólisis sea tan lenta que pase inadvertida, o sólo se sospeche al comprobar el escaso rendimiento de la transfusión. La prueba de Coombs directa es positiva, y en el suero o en el eluido se encuentra el anticuerpo responsable de la incompatibilidad.

La mayoría de las reacciones transfusionales fatales son debidas a errores administrativos de transcripción y/o de identificación. Por ello, el banco de sangre debe disponer de un sistema que garantice la correcta identificación del paciente y el etiquetado de la sangre del donante al que se va a administrar. Además, antes de practicar una transfusión es esencial garantizar que los eritrocitos del donante son compatibles con el suero/plasma del receptor. Para ello es imprescindible la realización de las llamadas *pruebas de compatibilidad*, que comprenden el estudio del grupo sanguíneo (ABO y Rh) del receptor y la posible presencia en su suero/plasma de anticuerpos irregulares. Las pruebas de compatibilidad requieren una ejecución muy cuidadosa, y la utilización de controles positivos y negativos adecuados.

Los anticuerpos irregulares aparecen contra antígenos, generalmente de baja capacidad antigénica, presentes en el propio organismo. Esto sucede sólo en aquellos individuos en los que dichos antígenos son capaces de generar la producción de anticuerpos por sí mismos o después de un estímulo antigénico previo. Por el contrario, los anticuerpos regulares pueden aparecer en cualquier individuo, y se dirigen contra antígenos no presentes en el organismo. Así sucede con los anticuerpos que pueden generarse contra los antígenos del sistema ABO. Los anticuerpos regulares se conocen a través del grupo sanguíneo del receptor, por lo que nunca ha de transfundirse sangre de un grupo sanguíneo incompatible. Para conocer la posible existencia de anticuerpos irregulares debe realizarse el correspondiente escrutinio con eritrocitos y suero/plasma del receptor. Si se demuestra la existencia de anticuerpos irregulares en el suero/plasma del receptor, es imprescindible la realización de pruebas cruzadas que permitan detectar, en el receptor, la existencia de anticuerpos contra antígenos del donante.

Enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN)

La enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN) obedece a un fenómeno de inmunización materna por antígenos de grupo eritrocitarios (Rh y/o ABH) procedentes del feto (aloinmunización). En la EHRN, los eritrocitos fetales son destruidos por anticuerpos maternos generados durante el embarazo por incompatibilidad feto-materna. Habitualmente, la placenta es impermeable al paso de células sanguíneas y de macroglobulinas (IgM), pero no de globulinas de bajo peso molecular (IgG). No obstante, durante el embarazo son frecuentes pequeñas hemorragias que facilitan la entrada de eritrocitos fetales en la circulación materna. Como consecuencia de ello, si los eritrocitos fetales poseen grupos sanguíneos no presentes en la madre, ésta se sensibiliza y genera una elevada concentración de anticuerpos (aloanticuerpos) a partir del segundo embarazo[25]. Debe señalarse que este comportamiento inmune de la madre frente a los eritrocitos del feto se modifica, si la incompatibilidad Rh coexiste con incompatibilidad ABH, ya que, en ese caso, los eritrocitos fetales que consiguen atravesar la placenta son rápidamente destruidos por los anticuerpos naturales de la madre y se impide el desarrollo de inmunización. Paradójicamente, el pronóstico de la EHRN es mucho mejor cuando existe esta asociación. Igualmente, la incompatibilidad ABH aislada tiene mucha menos importancia clínica que la incompatibilidad Rh[23].

En caso de inmunización, ésta se produce en dos etapas: primaria y secundaria. La inmunización primaria se desarrolla muy lentamente y es de tipo IgM (19S), anticuerpos que no atraviesan la placenta. Por ello, la inmunización primaria tiene, en general, escasa trascendencia sobre el feto. El problema surge cuando en un segundo embarazo existe también incompatibilidad feto-materna, ya que en este caso se produce una inmunización secundaria caracterizada por un desarrollo mucho más rápido y la formación de elevadas concentraciones de anticuerpos tipo IgG (7S). Es precisamente esta segunda inmunización la que favorece el desarrollo de la EHRN, ya que los anticuerpos anti-Rh formados por la madre, de tipo IgG, debido a su pequeño peso molecular

(150.000), atraviesan la barrera placentaria y penetran en la sangre fetal, causando una hemólisis masiva en el feto.

Las consecuencias fisiopatológicas de esta incompatibilidad dependen del grado de inmunización materna, aunque en general suelen ser graves (intensa anemia hemolítica e hiperbilirrubinemia o hidropesía fetal). En el caso de intensa hiperbilirrubinemia, ésta, debido a su carácter liposoluble, tiende a depositarse en diferentes tejidos, pero especialmente en el SNC, provocando trastornos neurológicos graves y, en general, irreversibles (ictericia nuclear o kernícterо), que pueden llegar a ocasionar el fallecimiento del recién nacido.

Manifestaciones clínicas. La aparición de la EHRN puede ser precoz (a partir del cuarto mes de gestación) o tardía próxima al parto). La aparición precoz de EHRN da lugar a formas clínicas muy graves consistentes en hidropesía fetal por anasarca fetoplacentaria intrauterina, con pérdida del feto (aborto) o parto prematuro de un feto muerto o que fallece poco después del parto[26]. La aparición tardía es la forma más frecuente (70-80% de casos) y puede evolucionar hacia formas leves o moderadamente graves de EHRN. La intensidad del cuadro clínico depende siempre de la concentración del aloanticuerpo y de la capacidad del feto para responder a la hemólisis sin que se produzcan complicaciones graves. El 50%, aproximadamente, de los recién nacidos con EHRN no requieren tratamiento alguno, ya que la anemia hemolítica es de escasa intensidad (formas clínicas leves). Estos niños, no obstante, ya que poseen sus eritrocitos recubiertos por el anticuerpo anti-D, presentan una PAD positiva. Alrededor del 30% de casos de EHRN presentan una clínica más manifiesta y caracterizada por un síndrome hemolítico con anemia intensa, hepatoesplenomegalia e ictericia con kernícterо (letargia, espasticidad, períodos de apnea, convulsiones y opistótonos). Los niños que sobreviven a esta situación pueden presentar secuelas graves de la enfermedad, como sordera, espasticidad, coreoatetosis o deficiencia mental[27].

Diagnóstico. Se basa fundamentalmente en la realización de la PAD o PAI en una muestra de sangre del recién nacido. Ambas pruebas serán positivas debido a la presencia de anticuerpos fijados en los eritrocitos o circulantes en el plasma, respectivamente. La mejor actitud clínica frente a la EHRN es la de procurar evitar su aparición. Para ello, debe investigarse tanto la madre, mediante estudio del grupo Rh y búsqueda de anticuerpos anti-D durante el embarazo (mediante la PAI), como el padre, mediante determinación del grupo sanguíneo y Rh, y el niño. En este último caso, debe identificarse el grupo sanguíneo, tipo de Rh, presencia de anticuerpos fijados a los eritrocitos (PAD) y determinación de concentración en sangre de hemoglobina y bilirrubina indirecta[28].

Tratamiento. El tratamiento de la EHRN puede ser preventivo o paliativo. El tratamiento preventivo pretende evitar la aparición de la aloinmunización, mientras que el paliativo tiene como finalidad reducir la producción de anticuerpos maternos contra el feto. El primero, consiste en la administración a la madre de gammaglobulina anti-D (RhIg) que previene contra el efecto inmunitario de los eritrocitos Rh+ del feto antes de que éstos entren en contacto con la sangre materna (inmunización pasiva). Cuando ya existe inmunización materna demostrada, debe recurrirse al tratamiento paliativo con la finalidad de disminuir la concentración de anticuerpos maternos circulantes, para lo cual puede procederse a un recambio intensivo del plasma o a la administración intravenosa de gammaglobulina anti-D. Otra opción es inducir el parto y someter al recién nacido a una exsanguinotransfusión con lavado de los eritrocitos sensibilizados (recubiertos por el aloanticuerpo) y reinfusión de los mismos totalmente desprovistos del aloanticuerpo. La exsanguinotransfusión constituye el tratamiento de elección en los recién nacidos con enfermedad hemolítica bien demostrada, ya que a la vez que elimina los eritrocitos sensibilizados, disminuye la anemia y el grado de hiperbilirrubinemia. La administración de albúmina (1 mg/kg peso) contribuye a mejorar la depuración del exceso de bilirrubina plasmática.

Anemia hemolítica inmunomedicamentosa

La anemia inmunomedicamentosa (AHIM) es poco frecuente y puede confundirse fácilmente con la AHAI común debido a que la PAD suele ser positiva. La AHIM se ha asociado con la administración de ciertos medicamentos muy empleados en la práctica clínica (penicilina y α-metil DOPA, entre otros) y cuya acción puede realizarse a través de tres mecanismos diferentes: mecanismo del hapteno, mecanismo del neoantígeno y mecanismo autoinmune o desconocido (tabla 11.5). Debe mencionarse que la adsorción inespecífica de un elevado número de proteínas no forzosamente inmunoglobulinas a la superficie eritrocitaria puede ser causa de una PAD positiva, sin reacción hemolítica acompañante (mecanismo de la adsorción de proteínas no inmunes). Un ejemplo característico de esta situación es la positivización de la PAD con la administración de cefalosporinas observada en, aproximadamente, el 3% de los pacientes sometidos a este tratamiento. Este efecto se atribuye a que las cefalosporinas favorecen la adsorción de diversas proteínas (albúmina, complemento, inmunoglobulinas y otras) sobre la superficie de los eritrocitos, y facilitan la positivización inespecífica de la PAD. Este fenómeno, no obstante, carece de trascendencia clínica.

Mecanismo del hapteno. En este mecanismo, el medicamento, o alguno de sus derivados, se fija intensamente a la membrana eritrocitaria y actúa como hapteno, es decir, se une al anticuerpo sin que éste contacte directamente con ninguna estructura eritrocitaria (fig. 11.5). La penicilina es el prototipo de medicamento que actúa a través de este mecanismo, aunque pueden hacerlo también otros como, por ejemplo, la cefalotina, isoniacida, quinidina, eritromicina, tetraciclinas, estreptomicina, carbromal, cisplatino, ciclofenilo y bromodiacetilurea. Este efecto sólo aparece cuando el medicamento se administra en dosis muy elevadas como, por ejemplo, en el caso de la penicilina (dosis > 20 millones U/día) o durante períodos de tiempo muy prolongados. Los anticuerpos antipenicilina son fundamentalmente de tipo IgG, y la PAD es positiva con anticuerpos anti-IgG y anti-C3. Esta positividad puede persistir aun después de cesar la administración del medicamento. Cabe señalar que la PAI es siempre negativa, excepto en el caso de que se utilicen eritrocitos normales previamente sensibilizados con penicilina[28].

Mecanismo del neoantígeno. Constituye un mecanismo mucho menos frecuente que el anterior, y obedece a la formación de un antígeno nuevo cuando el medicamento interacciona con la superficie del eritrocito. Este neoantígeno

TABLA 11.5

Anemias hemolíticas inmunomedicamentosas

Mecanismo	PAD	Pruebas inmunológicas PAI	Anti-IgG	Anti-C3b
HAPTENO	+	Neg	+	Neg
Penicilina				
Ampicilina				
Cefalotina				
Carbenicilina				
Cefalexina				
Eritromicina				
Tetraciclinas				
NEOANTÍGENO	+	Neg	Neg	+
Antiálgicos (aspirina, paracetamol, fenacetina)				
Antipalúdicos (quinina, quinidina)				
Antibióticos y sulfamidas (PAS, isoniazida, estreptomicina, tetraciclinas)				
Diuréticos (tiazidas, triamtereno)				
Neurolépticos (clorpromacina)				
Antihistamínicos				
Otros (estibofeno)				
AUTOINMUNE	+	+/Neg	+	Neg
α-metildopa				
L-dopa				
Procainamida				
Cimetidina				
Diclofenaco				
Ibuprofeno				
Tioridazina				

PAD: prueba de la antiglobulina directa; PAI: prueba de la antiglobulina indirecta.

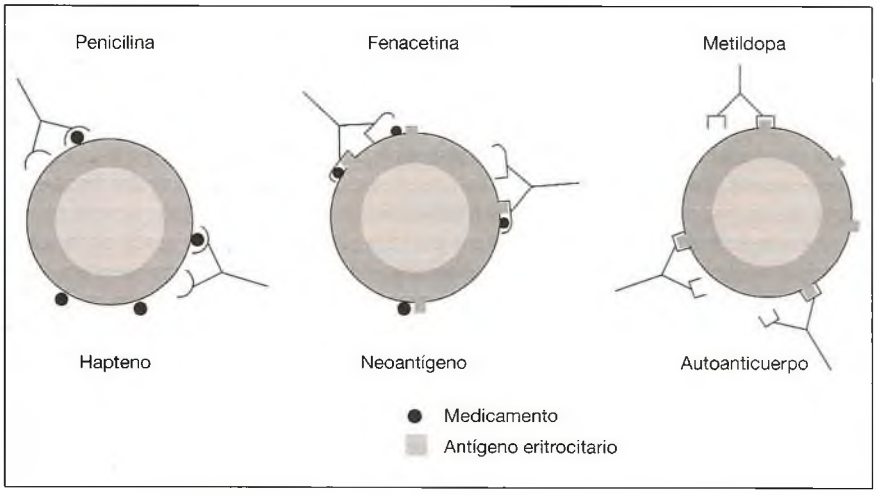


Figura 11.5. Mecanismos de la anemia hemolítica inmunomedicamentosa. El medicamento se une a la membrana y el anticuerpo sólo se une al medicamento que actúa como hapteno.

generaría autoanticuerpos contra el eritrocito que sólo actuarían en presencia del medicamento[28]. Los fármacos que actúan a través de este mecanismo son ciertos antiálgicos bien conocidos como la fenacetina, el paracetamol y el ácido acetilsalicílico (AAS), y también la quinidina, quinina, ácido paraaminosalicílico (PAS) y la rifampicina. El anticuerpo contra el neoantígeno es de tipo IgG o IgM, y actúa siempre en presencia del complemento. Este mecanismo de acción, totalmente diferente al del hapteno, explica el que pequeñas dosis del medicamento puedan producir intensas crisis hemolíticas y, debido a ello, este cuadro clínico suele presentar la gravedad de un síndrome hemolítico agudo con intensa hemoglobinuria y, ocasionalmente, insuficiencia renal. Se trata, por tanto, de un síndrome hemolítico agudo de meca-

nismo esencialmente intravascular, en el que la prueba de la PAD es siempre positiva por efecto del complemento fijado a la superficie eritrocitaria pero no de la IgG o IgM, que desaparecen al lavar los eritrocitos.

Mecanismo autoinmune. En este mecanismo el medicamento parece actuar sobre el sistema inmunitario provocando la formación de autoanticuerpos que actúan directamente contra la membrana eritrocitaria, como sucede en la AHAI[29]. El ejemplo más característico de este mecanismo es el que ejerce la α-metil DOPA, empleada en el tratamiento de la hipertensión[30]. Se trata, por tanto, de una AHAI tipo IgG con especificidad anti-Rh, cuyo mecanismo de acción es superponible al de una AHAI por autoanticuerpos calientes y, al igual que ésta, la PAD siempre es positiva. El mecanismo íntimo de interacción entre el medicamento y el sistema inmunitario se desconoce.

Hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN)

La hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) es la denominación, más bien pintoresca, que se ha dado a una enfermedad cuya manifestación clínica puede variar desde una discreta anemia normocítica y moderadamente regenerativa a una pancitopenia grave por aplasia de la médula ósea. La experiencia clínica demuestra que la HPN no es casi nunca paroxística sino intermitente, ni nocturna sino crónica, aunque sí es cierto que con cierta frecuencia los pacientes relatan la emisión de orinas oscuras (hemoglobinuria), especialmente por la mañana, lo que constituye una prueba de su carácter esencialmente intravascular. Parece claro, pues, que la denominación de HPN obedece más a un hecho circunstancial que motivó su primera descripcion por Marchiafava que a un comportamiento clínico habitual.

La HPN tiene su origen en una mutación somática adquirida, cuya consecuencia es un defecto de membrana consistente en un aumento de su sensibilidad al efecto lítico del complemento plasmático. Se trata, por tanto, de un trastorno infrecuente, situado a nivel de la célula madre pluripotente, cuya manifestación clínica predominante es la anemia crónica, aunque puede cursar también con leucopenia, plaquetopenia o incluso pancitopenia como expresión periferica de una aplasia grave de médula ósea[31,32]. La inclusión de la HPN en el capítulo de las anemias se explica por el hecho de ser el síndrome hemolítico la principal manifestación clínica de la enfermedad. Sin embargo, no debe olvidarse que la gravedad del cuadro clínico no depende exclusivamente de la intensidad de la anemia sino también de la afectación de las restantes series (leucopenia y/o trombopenia) y/o la frecuencia e intensidad de los fenómenos trombóticos venosos también relacionados con la alteración adquirida de membrana celular[33]. Desde un punto de vista general, una de las características de la HPN que más llama la atención es la hemólisis de los eritrocitos del paciente cuando se incuban en un medio ácido. Este hecho constituye la base metodológica de la llamada «prueba de la hemólisis en medio ácido» o prueba de Ham-Dacie, que durante muchos años ha constituido uno de los pilares básicos para el diagnóstico de la enfermedad. De hecho, sólo hemoliza una fracción de las células, lo que indica que en la HPN coexisten al menos dos poblaciones de eritrocitos de carácter clonal y diferente sensibilidad al complemento. En un principio, se reconocen al menos tres poblaciones clonales de eritrocitos: HPN I con sensibilidad al complemento normal, HPN II con sensibilidad entre tres y cinco veces superior a la normal, y HPN III con una sensibilidad muy aumentada, entre 15 y 30 veces la normal, de cuya proporción, variable a lo largo del curso evolutivo de la enfermedad, depende la intensidad de las manifestaciones clínicas. Estas clonas no son sólo de eritrocitos sino también de leucocitos (granulocitos neutrófilos y monocitos) y plaquetas. En algunos pacientes también se han detectado clonas de linfocitos, lo que sitúa el defecto somático que origina la enfermedad en la célula madre pluripotente.

Mecanismo molecular y fisiopatología. Hace algunos años se demostró que las subpoblaciones eritrocitarias de pacientes con HPN presentaban un trastorno bioquímico idéntico al de las mutaciones de clase A por déficit de síntesis de N-acetilglucosaminilfosfatidil inositol, el primer compuesto intermediario para el ensamblaje de las moléculas glucosil fosfatidil inositol (GFI). Actualmente, se sabe que la HPN obedece a mutaciones somáticas del gen que codifica la síntesis de este intermediario, o gen fosfatidil inositol glicano de clase A (PIG-A), situado en el cromosoma X o Xp22,1[34,35]. Dado el carácter somático de las mutaciones, todas ellas tienen expresión fenotípica, incluso en estado heterocigoto. Todas las manifestaciones fenotípicas de la HPN obedecen, por tanto, a mutaciones del gen PIG-A, y hasta la actualidad se han descrito alrededor de 100 en más de 70 pacientes con la enfermedad. Aunque cada una de estas mutaciones se expresa por igual en las tres líneas celulares sanguíneas, su mecanismo de aparición no tiene las características de clonalidad que caracterizan las mutaciones oncogénicas propias de las hemopatías malignas.

El gen PIG-A consta de seis exones, con una amplia zona de lectura constituida por 484 codones, y codifica una proteína con actividad enzimática y secuencia homóloga a la de la acetilglucosamil transferasa bacteriana. En el organismo humano esta enzima cataliza la transferencia de un grupo N-acetilglucosamina al fosfatidil inositol (FI), fosfolípido de la membrana celular, y mediante un proceso relativamente complejo, se forma una cadena de glucosil fosfatidil inositol (GFI) que sirve de anclaje para que ciertas proteínas puedan unirse a la membrana del eritrocito (fig. 11.6). Entre estas proteínas, denominadas genéricamente «moléculas unidas a la membrana por grupos fosfatidil inositol (MUGFI)», destacan las que protegen al eritrocito contra la acción lítica del complemento (tabla 11.6). La MUGFI con función más efectiva en este sentido es el antígeno CD55 o *decay accelerating factor* (DAF). Aunque los pacientes con HPN presentan un déficit global de MUGFI debido a un déficit de GFI, es característica la existencia de mosaicismo, es decir, la presencia en un mismo paciente de poblaciones eritrocitarias con diferente intensidad del déficit[35]. Estos pacientes muestran distribuciones celulares multimodales con presencia de una población normal, otra con un déficit parcial de MUGFI y una tercera con un déficit total. La diferente proporción entre estas poblaciones de eritrocitos es la determinante de los fenotipos HPN y, por tanto, de la diferente intensidad en la expresividad clínica de la enfermedad.

Las existencia de mutaciones del gen PIG-A parece más bien obedecer a un mecanismo de adaptación a determinadas circunstancias microambientales que a una mera desviación de la normalidad. Por ello, en algunos casos su apari-

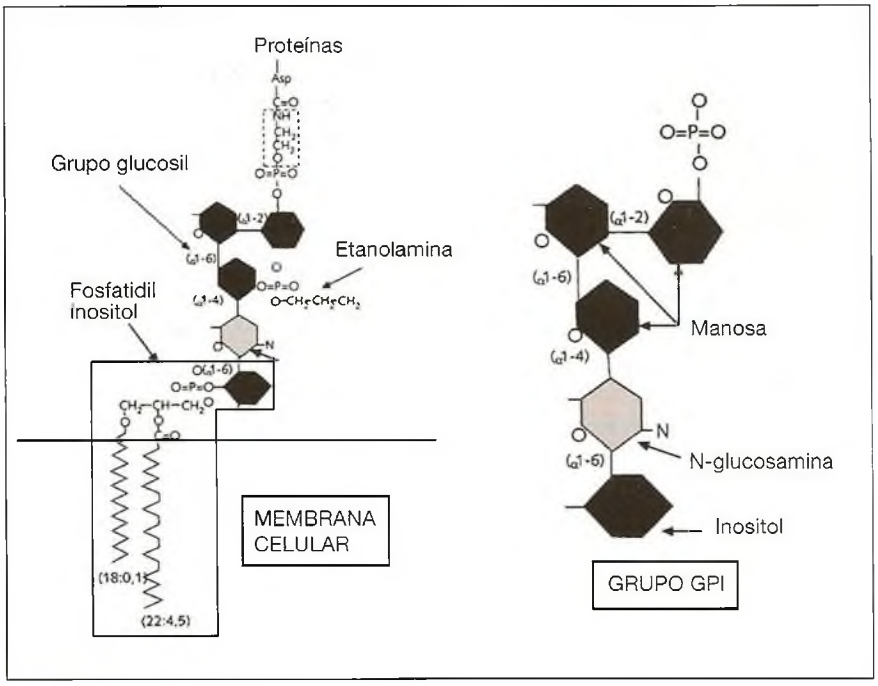


Figura 11.6. Grupos glucosil y fosfatidil inositol (GFI) que constituyen la molécula intermedia por la que las proteínas que intervienen en la degradación del complemento se unen a la membrana celular. Por ello se las conoce también como moléculas unidas a glucosil fosfatidil inositol o MUGFI.

TABLA 11.6

Proteínas que se unen a la membrana mediante el grupo GII

PROTEÍNAS REGULADORAS DE LA ACTIVIDAD DEL COMPLEMENTO
- Factor acelerante de la degradación (DAF, CD55)
- Inhibidor de la lisis de membrana (MIRL, CD59)
- Factor de restricción homóloga (HRF, C8 BP)

PROTEÍNAS RELACIONADAS CON LA FUNCIÓN DE LOS NEUTRÓFILOS
- Receptor de neutrófilos III (CD16)
- CD24
- CD67
- CLB-gran/5
- Receptor quimiotáctico F-met-leu-phe

PROTEÍNAS RELACIONADAS CON LA FUNCIÓN DE LOS LINFOCITOS
- Antígeno de función linfocitaria (LFA-3, CD58)

OTRAS PROTEÍNAS
- Receptor de la endotoxina (CD14)
- Acetilcolinesterasa eritrocitaria (AcHE)
- Fosfatasa alcalina granulocitaria (FAG)
- 5'-Nucleotidasa linfocitaria (5'NL)

ción podría ser, incluso, beneficiosa para contrarrestar el efecto debido a la producción de una clona eritrocitaria defectuosa. La posibilidad de varias mutaciones diferentes y simultáneas va a favor de esta hipótesis, así como también la relación existente entre HPN y aplasia de médula ósea. Esta asociación reviste un gran interés clínico, ya que los pacientes con HPN se han clasificado en dos grandes grupos: los que padecen o han padecido aplasia medular (aplasia/HPN) y los que carecen de relación con ella (HPN primaria). La proporción de pacientes en los que la HPN ha aparecido en relación a una aplasia medular varía entre el 15 y el 50%, según las series, y en general se trata de pacientes con aplasia inicial sola, que posteriormente han desarrollado una HPN (aplasia/HPN). Cabe señalar que en estos casos de aplasia/HPN, la HPN se desarrolla siempre durante la fase de recuperación o por efecto del tratamiento (andrógenos, globulina antitimocítica y ciclosporina). Por ello, la relación entre HPN y aplasia medular podría situarse a dos niveles: *a*) mutaciones somáticas de HPN y aplasia independientes y de aparición simultánea durante un estadio muy inicial de la eritropoyesis, de las que la expresividad de HPN se realizaría tardíamente durante el curso evolutivo de la aplasia, y *b*) mutaciones somáticas de HPN de aparición tardía, es decir, durante el curso de la aplasia[36].

Como consecuencia del déficit de la MUGFI DAF (CD55) en eritrocitos (aunque también en leucocitos y plaquetas), en la HPN existe un aumento de la sensibilidad de la membrana eritrocitaria a la acción lítica del complemento. El complemento actúa por intermedio de su fragmento de proteólisis C3b que, en condiciones normales, se fija a un receptor de la membrana eritrocitaria donde forma un complejo C3b-CR1. Cuando disminuye el pH del medio, se activan los mecanismos de la vía alternativa del complemento y aumenta la fijación de factor Bb (Bb) al complejo C3b-CR1, se activa su función convertasa y se inicia una cascada de reacciones que terminará en la lisis del eritrocito (hemólisis intravascular). Las MUGFI son el elemento protector contra esta acción, ya que al degradar el complejo C3b-CR1 interrumpen el desarrollo de la hemólisis.

Esta elevada sensibilidad de los eritrocitos HPN al complemento puede ponerse fácilmente de manifiesto mediante la activación de la vía alternativa del complemento a través de una prueba *in vitro* denominada de la hemólisis en medio ácido o prueba de Ham-Dacie[9].

Manifestaciones clínicas. Dado el carácter clonal de la HPN, la gravedad del cuadro clínico no depende sólo de la intensidad de la hemólisis sino también de la posible existencia de leucopenia y trombocitopenia o de la frecuencia e intensidad de los fenómenos trombóticos venosos. La HPN afecta a ambos sexos, y su mayor incidencia suele observarse entre los 30 y los 40 años. Clínicamente, es polimorfa y puede cursar con predominio de una u otra sintomatología, según el grado de afectación de las diferentes líneas celulares. Así, la mayoría de las veces se caracteriza por un síndrome hemolítico crónico, de inicio insidioso, casi siempre sin esplenomegalia palpable y que puede mantenerse estabilizado durante largos períodos de tiempo o bien presentar crisis de agudización paroxística. En este último caso, las crisis suelen aparecer durante el sueño (nocturnas) o, lo que es más frecuente, después de situaciones desencadenantes, como infecciones, esfuerzo físico, intervención quirúrgica, vacunaciones, menstruación o ingesta de ácido acetilsalicílico. Las crisis de agudización suponen un agravamiento del cuadro anémico, con aparición de cefaleas, fiebre, dolores abdominales o lumbares y, casi siempre, orinas oscuras (hemoglobinuria). Debe señalarse que la hemoglobinuria es un fenómeno muy constante en la HPN, y mientras en su forma paroxística basta con observar el color de la orina, en la forma crónica su existencia puede demostrarse a través de la presencia de hemosiderina en las células de descamación epitelial del sedimento urinario, teñido mediante la coloración de Perls o hemosiderinuria. Tan frecuente es la pérdida de hemoglobina por la orina en la HPN que casi siempre va acompañada de un estado de ferropenia latente de gran valor para su orientación diagnóstica. Así, y aunque no exista expresividad periférica de la ferropenia (microcitosis), la tinción de Perls del aspirado medular en la HPN muestra siempre una disminución o ausencia del hierro macrofágico, que contrasta con el patrón propio de cualquier otro síndrome hemolítico caracterizado por el fenómeno contrario (aumento del hierro de reserva).

Otras veces, la hemólisis es crónica y se asocia a leucopenia y/o trombocitopenia, también de evolución prolongada. En estos casos, el examen de la médula ósea suele mostrar un patrón de insuficiencia medular de intensidad variable (hipoplasia o marcada aplasia medular). Finalmente, en otro grupo de pacientes, la HPN se presenta como un cuadro de pancitopenia en el que predominan los trastornos de la coagulación. Éstos consisten, fundamentalmente, en episodios de trombosis venosa que afectan a diversos territorios del organismo: región hepática (síndrome de Budd-Chiari) o mesentérica, esplénica (infarto esplénico), renal (microtrombosis con insuficiencia renal) o cerebral (infarto cerebral con convulsiones y parálisis transitoria). El síndrome de Budd-Chiari obedece a una trombosis del sistema venoso hepático (trombosis difusa del sistema venoso intrahepático secundario y terciario), y se caracteriza por la aparición brusca de dolor abdominal, hepatomegalia blanda, ascitis y una marcada alteración de las pruebas hepáticas. Su aparición es un factor de mal pronóstico en la evolución de la enfermedad[37].

Diagnóstico. En cualquiera de sus formas de presentación clínica (predominantemente hemolítica, pancitopénica o trombótica), la sospecha clínica de HPN puede confirmarse mediante un conjunto de determinaciones complementarias entre las que destacan las siguientes:

El *hemograma* muestra generalmente una anemia moderada, con ligero descenso del número de leucocitos y/o plaquetas. Aunque la anemia suele ser normocítica y normocroma, la existencia de ferropenia asociada puede manifestarse por una microcitosis e hipocromía. La morfología eritrocitaria es inexpresiva, excepto en el caso de crisis hemolítica aguda o intensa ferropenia. En la forma crónica nunca se observan esferocitos.

Los *reticulocitos* suelen hallarse aumentados durante la fase activa de la enfermedad y normales, o sólo ligeramente elevados, durante la fase crónica. Cuando la HPN se asocia con insuficiencia medular (aplasia medular o hipoplasia) se aprecia reticulocitopenia.

El *examen de la médula ósea* resulta muchas veces anodino, pero casi siempre presenta signos que pueden ser orientativos. Así, en las formas de predominio hemolítico, se aprecia un patrón hipercelular con un aumento de la serie eritropoyética (eritroblastos ortocromáticos) en la que se observan algunos rasgos morfológicos de diseritropoyesis o megaloblásticos. A diferencia de los síndromes hemolíticos de otro origen, los depósitos de hierro macrofágico suelen estar muy disminuidos o inexistentes.

En las formas de predominio pancitopénico, el examen morfológico del aspirado medular es, a veces, infructuoso debido a la escasez de material aspirado o a la pobreza de la celularidad global, cuya naturaleza sólo puede demostrarse mediante la práctica de una biopsia ósea.

Las *pruebas de laboratorio específicas* que resultan útiles en el diagnóstico de HPN pueden clasificarse en directas e indirectas (tabla 11.7). Las pruebas indirectas son las más comúnmente empleadas en la práctica clínica, y consisten en demostrar los efectos del trastorno de membrana (hemólisis intravascular, aumento de la sensibilidad al complemento y alteraciones asociadas en leucocitos y plaquetas). Las pruebas directas consisten en demostrar la existencia del defecto (análisis citofluorométrico de los antígenos CD55 y CD59 en eritrocitos y leucocitos).

La *prueba de la hemólisis en suero acidificado* (prueba de Ham-Dacie) consiste en incubar a 37 °C los eritrocitos frente

TABLA 11.7

Pruebas de laboratorio para el diagnóstico de HPN

Pruebas indirectas
Prueba de hemólisis intravascular
Hemosiderinuria positiva
Prueba de sensibilidad al complemento
Prueba de la hemólisis en medio ácido positiva
Prueba de la sacarosa positiva
Otras alteraciones asociadas
Disminución de la acetilcolinesterasa eritrocitaria (AchE)
Disminución de la fosfatasa alcalina granulocitaria (FAG)
Aumento de la agregabilidad plaquetaria
Pruebas directas
Citofluorometría de eritrocitos
Disminución del antígeno CD55 (DAF)
Disminución del antígeno CD59 (MIRL)
Citofluorometría de leucocitos (neutrófilos y monocitos)
Disminución de los antígenos CD55 y CD59
Disminución de los antígenos CD14, CD24 y CD67

al propio suero acidificado y frente a un suero normal homólogo, también acidificado. La positividad viene dada por la existencia de hemólisis en ambos casos, y obedece a la activación de la vía alternativa del complemento por efecto del pH. Existe otra enfermedad en la que también puede observarse positividad de la prueba de Ham-Dacie (diseritropoyesis congénita tipo II o HEMPAS), pero sólo frente a un determinado número (10-15%) de sueros homólogos y nunca frente al propio. Ello es debido a que en el HEMPAS los eritrocitos poseen un antígeno de membrana específico (antígeno HEMPAS), que sólo reacciona con anticuerpos presentes en el suero de individuos sanos. En la prueba de la sacarosa, la baja fuerza del medio (solución de sacarosa) ejerce el mismo efecto que la acidificación. La prueba de la sacarosa es más sensible que la de Ham-Dacie, pero menos específica.

Las *fosfatasas alcalinas granulocíticas (FAG)* se hallan disminuidas siempre que no exista hipoplasia o aplasia medular, mientras que el descenso de la *acetilcolinesterasa eritrocitaria (AchE)* parece ser un hallazgo más constante.

La *hemosiderinuria* es una prueba de gran valor en la HPN, ya que pone de manifiesto una pérdida pequeña, pero crónica, de hemoglobina por la orina (hemoglobinuria), y su realización se determina mediante la tinción de Perls (azul de Prusia) del sedimento urinario.

La *citofluorometría*, al ser un método directo, es mucho más fiable que cualquiera de los procedimientos indirectos citados[38]. Por ello, su empleo ha supuesto una verdadera revolución en el diagnóstico de la HPN, ya que permite no sólo analizar sino también cuantificar, el número de células HPN con déficit de proteínas GPI. Así, para las diferentes células sanguíneas, los antígenos con mayor poder de resolución son los siguientes: CD14 (monocitos), CD55 (monocitos y neutrófilos), CD24 (neutrófilos) y CD59 (eritrocitos). La posibilidad de realizar la determinación directamente a partir de leucocitos (neutrófilos, linfocitos y monocitos) evita, además, los inconvenientes derivados del empleo de eritrocitos, especialmente cuando el paciente debe ser sometido a transfusiones frecuentes, y facilita seguir la evolución del proceso basándose en la cuantificación periódica del número de células HPN en el curso de la enfermedad.

Pronóstico y tratamiento. No existe tratamiento específico de la enfermedad, por lo que cuando es necesario, debe recurrirse a tratamientos paliativos. Entre ellos, destacan la fluidoterapia y la hiperhidratación, que deben acompañarse de la administración de concentrados de eritrocitos lavados cuando la concentración de hemoglobina en sangre desciende por debajo de 90 g/L o cuando existen episodios agudos de hemoglobinuria. En la HPN, las transfusiones tienen como único objetivo paliar el efecto de la anemia, mientras se está a la espera de poder aplicar tratamientos más específicos. Uno de ellos es la administración de andrógenos en dosis elevadas (oximetolona,10-15 mg/día, o fluoximesterona, 20 a 30 mg/día) cuando predomina la aplasia, o de corticoides (prednisona 1 mg/kg/día) cuando predomina la hemólisis. En casos de pancitopenia intensa se ha ensayado también la administración de inmunosupresores, con buenos resultados.

Uno de los aspectos más delicados de la HPN son las complicaciones trombóticas. Aunque su aparición no puede controlarse, sí deben evitarse todas aquellas situaciones favorecedoras del riesgo trombótico, como la administración de anticonceptivos orales. Cuando los fenómenos trombóticos ya han aparecido, deben administrarse anticoagulantes o iniciar un tratamiento trombolítico, según los casos. Los anticoagulantes cumarínicos son ineficaces en las formas graves de trombosis de la vena hepática, por lo que en este caso debe procederse a una terapéutica intensa mediante heparina o medicamentos trombolíticos (estreptocinasa, urocinasa o activador tisular del plasminógeno). Cuando estas complicaciones son muy graves y recidivantes, es conveniente plantearse la posibilidad de un trasplante de médula ósea (TMO). Cuando el paciente tiene un gemelo singénico, el TMO es la opción terapéutica más aconsejable en caso de HPN grave. Cuando no es así, debe procederse al trasplante alogénico con el riesgo que comporta tanto en lo que se refiere a morbilidad como a mortalidad. Con todo, en casos de HPN graves y con peligro de muerte por complicaciones, constituye la alternativa terapéutica más aconsejable[39]. Finalmente, y a pesar de la frecuencia de ferropenia en la HPN, debida a la pérdida continuada de hierro por la orina en forma de hemosiderina (hemosiderinuria), la administración de hierro en esta enfermedad debe hacerse con precaución, ya que el aumento de la eritropoyesis por efecto del hierro puede incrementar la hemólisis al elevar el número de eritrocitos HPN circulantes.

En los casos sin complicaciones trombóticas graves, la mediana de supervivencia de los pacientes con HPN suele ser superior a 10 años, y las principales causas de muerte, además de las trombosis venosas, son las infecciones secundarias a la leucopenia o las hemorragias debidas a plaquetopenia. En algunos casos, puede observarse una transformación maligna del proceso en síndrome mielodisplásico (SMD) o leucemia aguda (LA), generalmente de estirpe mieloide.

ANEMIAS HEMOLÍTICAS ADQUIRIDAS NO INMUNES

Constituyen un grupo de anemias hemolíticas de etiología muy variada y, aunque menos frecuentes que las AHAI, son fácilmente distinguibles de ellas tanto por su comportamiento clínico como por la negatividad de la prueba de Coombs. Todas las anemias hemolíticas incluidas en este grupo obedecen a una agresión extrínseca de los eritrocitos, excepto el caso de la HPN, debida a un defecto adquirido de la membrana eritrocitaria (tabla 11.1).

Hemólisis mecánica

En su recorrido por el interior de la luz vascular, los eritrocitos se ven sometidos a importantes fuerzas de cizallamiento, que resisten fácilmente gracias a su gran capacidad de deformación. En determinadas circunstancias, no obstante, la presencia de lesiones del sistema vascular puede alterar la dinámica circulatoria hasta el punto de producir su fragmentación o hemólisis mecánica[40].

Las causas de la hemólisis mecánica son, en realidad, muy diversas, aunque pueden clasificarse en dos grandes grupos: las lesiones del corazón y grandes vasos, y las lesiones de pequeños vasos y microcirculación.

Lesiones del corazón y grandes vasos

Las alteraciones cardíacas que con mayor frecuencia van acompañadas de una fragmentación mecánica de los eritrocitos son la implantación de prótesis valvulares (especialmente, las aórticas) y ciertas reparaciones quirúrgicas intracardíacas mediante material de Teflón para el cierre del

ostium primum interauricular, o tubo de Dacrón para el tratamiento de la tetralogía de Fallot (tabla 11.8). En todos estos casos, la regurgitación sanguínea producida en torno a estas prótesis lesiona irreversiblemente la estructura eritrocitaria y favorece su fragmentación. Debido a ello, este tipo de hemólisis se caracteriza por su carácter crónico, la frecuente asociación a hemosiderinuria que, a su vez, puede ser causa de anemia ferropénica, y la existencia de una marcada alteración de la morfología eritrocitaria en la que destacan los signos de fragmentación mecánica: fragmentos irregulares o triangulares (esquistocitos), en forma de casco o *helmet cells* (queratocitos) o microesferocitos (fig. 11.7). Aunque es posible observar todas estas formas simultáneamente, lo más habitual es que sólo sean apreciables algunas de ellas y en pequeña proporción. Por ello, cuando en caso de una anemia hemolítica existe el antecedente de cirugía cardíaca con implantación de alguna de las prótesis mencionadas, debe examinarse cuidadosamente la morfología eritrocitaria al objeto de detectar alguna de ellas. Cabe señalar que en algunos casos de hemólisis mecánica se ha observado una positivización de la PAD, lo cual se ha atribuido a la exteriorización de antígenos eritrocitarios ocultos por efecto de la turbulencia sobre los eritrocitos[41]. La ecocardiografía transesofágica constituye el procedimiento de elección para la confirmación diagnóstica de las disfunciones de prótesis valvulares, al igual que el Doppler también puede emplearse para identificar el lugar preciso donde se produce la rotura de los eritrocitos[42].

TABLA 11.8

Anemia hemolítica mecánica por lesiones cardíacas y de grandes vasos

Prótesis valvulares sintéticas
Valvuloplastias y trasplante valvular
Suturas y reparaciones intracardíacas (parches de Teflón)
Valvulopatías no operadas (aórtica o mitral)
Estenosis aórtica
Rotura del seno de Valsalva
Reparaciones quirúrgicas de grandes vasos
Coartación aórtica
Fístula arteriovenosa
Síndrome de Kasabach-Merrit
Hemangioendoteliomas
Circulación extracorpórea
Hemodiálisis
Tratamiento quirúrgico de la tetralogía de Fallot

Lesiones de pequeños vasos

La lesión de pequeños vasos (capilares y arteriolas) puede ser causa de un tipo de anemia hemolítica conocida como *microangiopática*. El mecanismo de la hemólisis obedece siempre a la rotura de los eritrocitos en la microcirculación, debido al efecto de las fuerzas de cizallamiento generadas por la presión sanguínea al actuar sobre una luz vascular parcialmente obturada por depósitos plaquetarios y microtrombos, o un endotelio lesionado con depósitos en su interior. El mecanismo mejor conocido de anemia hemolítica microangiopática (AHMA) es la microangiopatía trombótica (MAT) o formación de microtrombos que obstruyen parcialmente la luz de capilares y arteriolas y que dificultan el paso de los eritrocitos a su través, facilitando su fragmentación mecánica. La MAT constituye el mecanismo fisiopatológico de

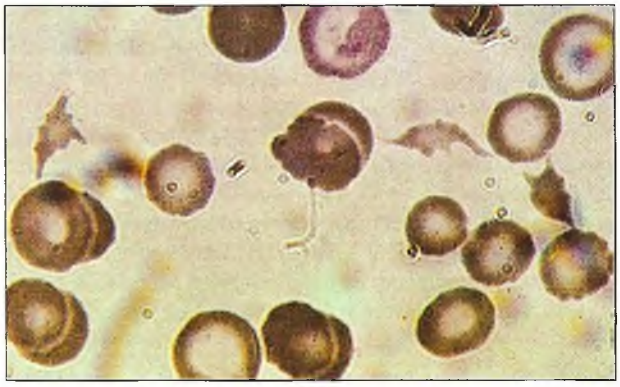


Figura 11.7. Eritrocitos fragmentados (esquistocitos) en un paciente con anemia hemolítica mecánica. Extensión de sangre teñida mediante MGG (×800).

la anemia en un grupo de enfermedades y trastornos muy diversos entre los que destacan, como más característicos, dos entidades conocidas como síndrome hemolítico urémico (SHU) y púrpura trombótica trombocitopénica (PTT) (tabla 11.9).

TABLA 11.9

Causas de microangiopatía trombótica (MAT)

SÍNDROME HEMOLÍTICO URÉMICO (SHU)
PÚRPURA TROMBÓTICA TROMBOCITOPÉNICA (PTT)
INFECCIONES
Escherichia coli (serotipo 0157:H7)
Shigella dysenteriae (serotipo I)
Streptococcus pneumoniae
Otros gérmenes
Salmonella typhi y *Campylobacter jejuni*
Virus *Echo*, Epstein-Barr e inmunodeficiencia humana (VIH)
CARCINOMAS DISEMINADOS
Gástrico, mamario, broncopulmonar y pancreático
QUIMIOTERAPIA
Ciclosporina A
Mitomicina C
Cisplatino
Bleomicina
EMBARAZO Y POSPARTO
Preeclampsia y eclampsia con hemólisis, hepatopatía y plaquetopenia (HELLP)
PTT
SHU posparto
HIPERTENSIÓN MALIGNA
COAGULACIÓN INTRAVASCULAR DISEMINADA (CID)
ENFERMEDADES Y TRASTORNOS INMUNES
Lupus eritematoso sistémico (LES)
Glomerulonefritis aguda
Esclerodermia y micropoliarteritis nudosa (PAN)
Granulomatosis de Wegener
Enfermedad del injerto contra el huésped (EICH)
Amiloidosis sistémica
HEMANGIOMAS
Síndrome de Kasabach-Merrit (hemangioma gigante)
Hemangioendotelioma hepático
Lesiones plexiformes de la hipertensión pulmonar
HEMOGLOBINURIA DE LA MARCHA

Síndrome hemolítico urémico (SHU)

El SHU es una enfermedad grave propia de la edad infantil (dos primeros años de la vida) o de personas jóvenes, ya que rara vez se presenta en los adultos. Aunque se han descrito diferentes formas clínicas de SHU (epidémica, esporádica, asociada con procesos no infecciosos y hereditaria con carácter autosómico recesivo)[43], en más del 75% de casos aparece después de una infección previa, casi siempre por *E. coli* serotipo 0157:H7. Otros gérmenes como *Shigella dysenteriae*, *Streptococcus pneumoniae* o *Salmonella typhi*, *Yersinia* y *Campylobacter* o ciertos virus tipo varicela, *Echo*, *Coxsackie* (A y B) y VIH, pueden ejercer, también, una acción similar.

Fisiopatología. El SHU obedece a una MAT localizada preferentemente en el riñón aunque también puede afectar otros órganos como el hígado, páncreas y cerebro. En el riñón, la lesión del SHU consiste fundamentalmente en una congestión, infarto y trombosis hialina de las pequeñas arteriolas y capilares glomerulares. El desencadenante de esta lesión parecen ser las toxinas bacterianas liberadas durante la infección que precede a la insuficiencia renal y que, de alguna forma, actúan directamente sobre el endotelio vascular. Esta lesión altera la regulación local de la hemostasia, con aumento de sustancias que favorecen la agregación plaquetaria. Entre ellas debe mencionarse como más importante el factor de Von Willebrand (VWF) en su forma multimérica o de elevado peso molecular. Los multímeros de VWF con intensa acción agregante plaquetar son transformados habitualmente por una proteasa plasmática (metaloenzima) en polímeros de bajo peso molecular con mucha menor capacidad para agregar las plaquetas. En el SHU se ha demostrado un aumento significativo de multímeros VWF que, junto con la menor liberación del antiagregante prostaciclina (PGI_2), por el endotelio lesionado y el aumento local de tromboxano A_2, potente agregante plaquetario liberado por las propias plaquetas activadas, facilitan una rápida e intensa agregación plaquetaria local[40]. Como consecuencia de ello, se producen microtrombos que obstruyen la luz de los capilares y arteriolas renales, dando lugar a un síndrome clínico generalmente muy grave, caracterizado por insuficiencia renal aguda (anuria), hipertensión y anemia hemolítica, que requiere tratamiento urgente.

Manifestaciones clínicas. En más del 75% de casos, el SHU tiene su inicio en una infección por *E. coli* con afectación del aparato digestivo (gastroenteritis aguda, con vómitos y diarrea) en el 90% de casos, y del respiratorio alto en el 10% restante. En otros casos sólo existe un síndrome febril de escasa intensidad o incluso ningún antecedente demostrable. Las vías de contagio son las propias de *E. coli* aunque cabe señalar aquí la relativa frecuencia de la ingesta de carne en mal estado o infectada por *E. coli*. Este hecho explica que el SHU se haya considerado como la «enfermedad de las hamburguesas» debido a la facilidad con que éstas pueden infectar por vía digestiva a niños y jóvenes cuando las condiciones higiénicas de la carne empleada en su preparación no han sido correctas.

El cuadro clínico propiamente dicho se caracteriza por su aparatosidad, con anemia aguda (caída brusca del hematocrito), dolor abdominal intenso, vómitos y orinas oscuras (hemoglobinuria), que rápidamente evoluciona hacia la anuria con insuficiencia renal aguda. La exploración física muestra una hepatomegalia moderada, sin esplenomegalia, palidez y/o ictericia y signos de hemorragia cutaneomucosa (petequias y/o equimosis). La trombocitopenia que suele acompañar al SHU suele manifestarse por equimosis y petequias de intensidad variable. En adultos, la aparición del SHU parece ser más esporádica y, en general, después de haber padecido una infección enterohemorrágica por *E. coli* o asociada con procesos causantes de MAT, como carcinomas diseminados, ingesta de citostáticos o anticonceptivos orales, enfermedades autoinmunes, síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida) y embarazo (tabla 11.9). En estos pacientes, el cuadro clínico de SHU coexiste con manifestaciones neurológicas (convulsiones y parestesias transitorias), de insuficiencia cardíaca y/o de edema pulmonar. También se ha descrito un SHU adquirido en, aproximadamente, el 10% de pacientes sometidos a trasplante de médula ósea (TMO) o renal. Finalmente, el SHU también puede ser una complicación grave de la ingesta de cocaína.

Diagnóstico. El diagnóstico de SHU, aunque es esencialmente clínico, debe confirmarse mediante diversas pruebas de laboratorio, entre las que destacan la demostración de fragmentación eritrocitaria y hemólisis intravascular, junto con los signos biológicos característicos de afectación renal (aumento de creatinina y BUN) y de la hemostasia (plaquetopenia intensa y alteraciones de las pruebas de coagulación). El hemograma muestra una intensa anemia normocítica, o moderadamente macrocítica con reticulocitosis, leucocitosis neutrofílica y trombocitopenia. Las pruebas de hemólisis demuestran el carácter hemolítico de la anemia, descartándose su origen corpuscular. La prueba más idónea para establecer el diagnóstico es el examen morfológico de la extensión de sangre, en la que en todos los casos se aprecia la presencia de un número variable de esquistocitos (eritrocitos fragmentados) en sus diferentes formas (pequeños fragmentos triangulares, formas irregulares, microesferocitos, queratocitos o eritrocitos «mordidos», etc.). (fig. 11.8). El plasma muestra, además de hemoglobina libre, una disminución de la haptoglobina y un gran aumento de la bilirrubina total (con predominio de la fracción no conjugada), lacticodeshidrogenasa (LDH), creatinina y urea. Aunque las pruebas de coagulación no suelen verse excesivamente afectadas, es frecuente que muestren un aumento del factor inhibidor del activador del plasminógeno (PAI), así como disminuciones importantes de la concentración de fibrinógeno y de antitrombina III[44]. Finalmente, puede evidenciarse un descenso de las fracciones del complemento (C3 y C4 o sólo C3). Las pruebas de función renal muestran un importante aumento de la concentración de creatinina plasmática, con disminución de su aclaramiento. El estudio iónico del plasma muestra también importantes alteraciones del equilibrio ácido-base, con disminución de la concentración de sodio (hiponatremia) y aumento de la de potasio (hiperpotasemia). Asimismo, se observa una disminución de la concentración de calcio en plasma (hipocalcemia), con signos biológicos de acidosis metabólica.

Tratamiento. La gravedad del cuadro clínico hace imperativa la necesidad de instaurar el tratamiento con carácter de urgencia, que debe realizarse en una Unidad de Cuidados Intensivos. En su fase inicial, consta esencialmente de un tra-

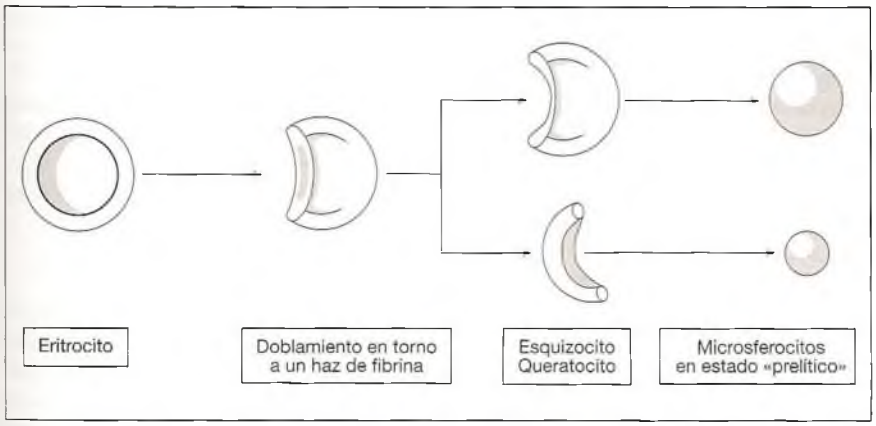


Figura 11.8. Esquema del mecanismo de la fragmentación mecánica eritrocitaria en la anemia hemolítica microangiopática. Formación de esquistocitos, queratocitos y microesferocitos.

tamiento de soporte para mantener el estado de hidratación, control de la presión arterial y vigilancia del equilibrio ácido-base. Es muy importante no administrar transfusión, excepto cuando sea estrictamente imprescindible (siempre concentrados de eritrocitos y nunca de sangre total, ya que la administración de plaquetas puede agravar el cuadro clínico). En caso de insuficiencia renal grave, es necesario practicar una hemodiálisis o una diálisis peritoneal. En una segunda fase, debe procederse a practicar una plasmaféresis o infusión de plasma fresco, que constituyen el tratamiento de elección de la enfermedad. Muchas veces, la supervivencia del paciente depende de la rapidez con que se instaure este tratamiento, cuya finalidad es eliminar los factores plasmáticos circulantes que lesionan el endotelio vascular o favorecen la agregabilidad plaquetaria[40]. En caso necesario, este tratamiento puede complementarse con la administración de antiagregantes plaquetarios, principalmente ácido acetilsalicílico (AAS) y dipiridamol.

En resumen, el tratamiento del SHU en los niños y en adultos jóvenes reside esencialmente en un correcto abordaje de la insuficiencia renal y de la hipertensión, y en el uso adecuado de las transfusiones. En los adultos, aunque el planteamiento general es el mismo que para el grupo anterior, la opción más recomendable es la plasmaféresis, especialmente cuando existen complicaciones neurológicas, ya que con ello se amortigua el estado de hiperagregabilidad plaquetaria y se observa una mejora relativamente rápida del cuadro clínico[45].

Púrpura trombótica trombocitopénica (enfermedad de Moschcowitz)

La púrpura trombótica trombocitopénica (PTT) es un síndrome clínico de características similares al SHU, pero menos frecuente y generalizado, ya que, junto con la anemia hemolítica y la afectación renal, existen también lesiones en otros órganos vitales, en especial en el sistema nervioso central (SNC). La PTT es una enfermedad propia de adultos jóvenes, ya que su pico de incidencia se sitúa entre los 30 y los 40 años. Asimismo, es más frecuente en el sexo femenino que en el masculino. Aunque puede aparecer en cualquier circunstancia, la PTT se observa con especial incidencia acompañando situaciones diversas, como el embarazo, la ingesta de medicamentos, enfermedades inmunes, infecciones y ciertas carcinomatosis diseminadas.

Fisiopatología. Al igual que el SHU, la PTT es una MAT generalizada que afecta al endotelio de arteriolas y capilares de numerosos órganos vitales, entre los que destacan el cerebro, el corazón, el hígado y el riñón. La lesión anatómica consiste en una oclusión de las arteriolas terminales y capilares por agregados de plaquetas y factor Von Willebrand (VWF) sin excesiva fibrina o inflamación, lo que la diferencia claramente de la coagulación intravascular diseminada (CID) y de la vasculitis, respectivamente (fig. 11.9). La interacción de los eritrocitos con estas lesiones conlleva su fragmentación y la aparición de una hemólisis intravascular relativamente generalizada e intensa, con presencia de esquistocitos circulantes. El consumo de plaquetas, secundario a la formación de microtrombos, es la causa de la intensa trombocitopenia que acompaña a este trastorno. El mecanismo etiológico de la PTT parece ser muy similar al del SHU, aunque diversas investigaciones apuntan hacia la existencia, en esta enfermedad pero no en el SHU, de un anticuerpo contra la proteasa plasmática (despolimerasa) que transforma el factor Von Willebrand (VWF) de elevado peso molecular (con potente acción agregante plaquetaria) en polímeros de bajo peso molecular sin apenas actividad proagregante plaquetaria. Como consecuencia de ello, disminuiría la actividad de esta proteasa y aumentaría la concentración de VFW multimérico y, por tanto, de la agregabilidad plaquetaria[46].

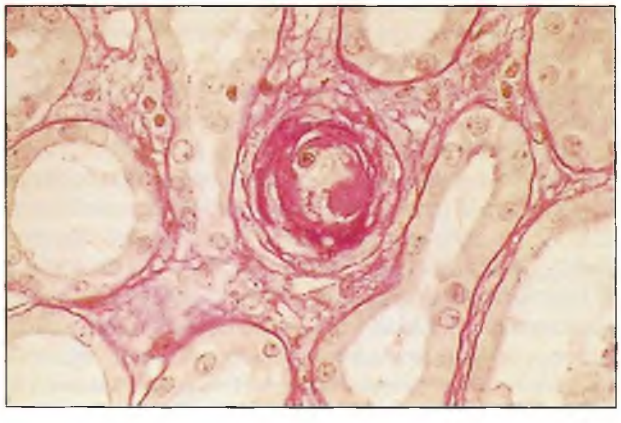


Figura 11.9. Imagen histopatológica de lesión renal en un paciente afecto de síndrome hemolítico urémico (SHU). Obsérvese la sección transversal de un vaso con la luz parcialmente obstruida (hematoxilina-eosina ×400).

Manifestaciones clínicas. Al igual que el SHU, el diagnóstico de la PTT es esencialmente clínico, ya que se caracteriza por cinco signos guía que constituyen la clásicamente

conocida enfermedad de Moschcowitz: 1) anemia hemolítica; 2) trombocitopenia; 3) fiebre; 4) neuropatía, y 5) insuficiencia renal. Así, la aparición de sintomatología neurológica en el contexto de un síndrome anémico agudo, con hemorragias y orinas oscuras, es altamente sugestivo de PTT. La demostración de su carácter hemolítico (aumento de la concentración de LDH en plasma), la característica presencia de eritrocitos fragmentados (esquistocitos) en sangre son, junto con la trombocitopenia (< 50 x 10^9/L), los signos biológicos de mayor valor diagnóstico. No es infrecuente que este cuadro hematológico periférico vaya acompañado de leucocitosis con presencia de algunos mielocitos y metamielocitos circulantes (mielemia). En un elevado número de casos, existe el antecedente, pocos días antes del inicio del cuadro clínico, de un episodio infeccioso de origen vírico, por *Mycoplasma pneumoniae* o de una endocarditis bacteriana. La afectación neurológica, cuando existe, es de origen central, intensa y transitoria, y se caracteriza por confusión, obnubilación, afasia, parálisis facial, hemiparesia y, eventualmente, crisis comiciales focales o generalizadas. Ocasionalmente, puede aparecer un estado de coma. Finalmente, la insuficiencia renal es, por regla general, moderada, y suele aparecer más tardíamente. Cuando es muy intensa el cuadro clínico puede confundirse fácilmente con un SHU.

En la PTT las pruebas de la antiglobulina directa (PAD) e indirecta (PAI) son siempre negativas, lo que permite diferenciarla claramente del síndrome de Evans (anemia hemolítica autoinmune con trombocitopenia) y con el que puede confundirse fácilmente si no se presta atención a las características alteraciones de la morfología eritrocitaria. La biopsia renal confirma la presencia de lesiones glomerulares y arteriales características (oclusión de la luz arterial y capilar por microtrombos hialinos acidófilos y PAS-positivos, en cuyo seno se hallan abundantes agregados de plaquetas y VFW envueltos por fibrina). El curso evolutivo de la PTT puede ser muy grave, por lo que la aplicación del tratamiento es prioritaria[47].

Tratamiento. Junto al requerimiento transfusional (según la intensidad de la anemia) y diálisis peritoneal (basada en el compromiso de la función renal), el objetivo terapéutico en la PTT es bloquear la progresión de los fenómenos trombóticos. Por el momento, el procedimiento más eficaz y que logra mayor índice de supervivencia (> 80% de casos) es la plasmaféresis o recambio plasmático asociada a la infusión de plasma fresco. Con ello, se elimina el factor o factores plasmáticos que interviene en la etiopatogenia del proceso y se administra la proteasa plasmática deficiente, consiguiéndose así una remisión rápida de las manifestaciones hematológicas y neurológicas. El protocolo para el tratamiento de la PTT recomienda el empleo de plasmaféresis mediante plasma fresco en cantidad de 1 a 1,5 litros de plasma al día, hasta que se aprecie recuperación de los signos hematológicos y neurológicos. En general, basta con 4 días, aunque muchas veces se requiere continuar con este tratamiento 10 días más para conseguir la remisión completa[48]. Junto con la plasmaféresis, algunos autores recomiendan la administración de corticoides en dosis altas (600-1.500 mg/24 h de hemisuccinato de cortisona) y de antiagregantes plaquetarios (400 a 600 mg/24 h de dipiridamol), heparina y activadores del plasminógeno (estreptocinasa y urocinasa).

Cuando no se aprecia respuesta a la plasmaféresis, puede ensayarse la esplenectomía combinada con la administración de dextrano y corticoides. Finalmente, otra opción terapéutica es la administración de grandes dosis de prostaciclina por vía intravenosa. En cualquier caso, el tratamiento de la PTT, debido a la gravedad del proceso, es extraordinariamente delicado, y precisa de una atención y soporte clínico continuados. Por ello, debe realizarse siempre bajo estrecha vigilancia médica y en un lugar donde el cuidado intensivo del paciente esté garantizado en todo momento.

Otras causas de microangiopatía trombótica (MAT)

Además del SHU y PTT, la existencia de una anemia hemolítica con esquistocitosis (AHMA) puede observarse también en situaciones muy diversas, entre las que destacan ciertos carcinomas diseminados (microangiopatía trombótica del cáncer), administración de ciertos citostáticos, el embarazo (eclampsia y coagulación intravascular diseminada) y la hipertensión maligna, tumores angiomatosos (hemangioma cavernoso esplénico o hepático) y procesos vasculíticos de diversa índole. Finalmente, son también AHMA las que aparecen como consecuencia de ejercicio físico extenuante, como el que realizan algunos atletas corredores de maratones o soldados sometidos a marchas muy prolongadas.

Entre las *microangiopatías neoplásicas*, destacan las que aparecen en el curso de carcinomas gástricos diseminados (52% de casos), cáncer de mama (14% de casos), neoplasia de pulmón (10% de casos) y carcinoma pancreático (6% de casos). En todos ellos, es frecuente apreciar, junto con un síndrome hemolítico agudo de carácter intravascular, signos clínicos o biológicos de coagulación intravascular diseminada (CID). La CID obedece a depósitos de fibrina en el endotelio de los pequeños vasos de la microcirculación, con oclusión de la luz vascular e isquemia. El consumo de los factores de coagulación y de plaquetas es la causa de la diátesis hemorrágica, característica de este trastorno generalizado. El mecanismo íntimo de la CID se atribuye a la presencia de un factor hístico (FH) que favorece la coagulación y el depósito generalizado de fibrina en el interior de la microvasculatura. Dado que este factor puede aparecer en numerosas situaciones, la CID es un síndrome común a muchas enfermedades, y puede evolucionar de forma aguda o crónica (tabla 11.10).

En cuanto al posible efecto de *citostáticos*, la administración de mitomicina-C, tamoxifeno o cisplatino (solos o asociados con otros citostáticos) también puede dar lugar a un síndrome clínico superponible al SHU. El mecanismo de este efecto se desconoce, aunque se atribuye a una acción directa del citostático sobre el endotelio o a la formación de complejos inmunes circulantes.

Durante el *embarazo* y el *puerperio* pueden aparecer tres formas de MAT diferentes: preeclampsia y eclampsia, PTT y SHU posparto. La preeclampsia aparece durante la gestación, y se caracteriza por hipertensión, proteinuria y edemas, denominándose eclampsia cuando se complica con ataques de «gran mal». Al igual que en la PTT, en ambas formas de MAT se afectan los cuatro órganos diana: riñón, hígado, corazón y SNC. Se ha demostrado también que estas mujeres son portadoras de niveles muy elevados de endotelina, un potente vasoconstrictor producido por el endotelio vascular.

La complicación hematológica, presente en un elevado número de casos, consiste en AHMA con esquistocitosis, trombocitopenia y alteraciones de la coagulación. Así, en la preeclampsia, es característica la existencia de un síndrome de coagulación intravascular diseminada (CID) con plaqueto-

TABLA 11.10

Causas de coagulación intravascular diseminada (CID) crónica

Accidentes obstétricos
Síndrome de retención fetal
Maniobras abortivas mediante soluciones salinas hipertónicas
Enfermedades cardiovasculares
Infarto de miocardio
Accidentes vasculares periféricos
Síndrome de Leriche
Carcinomas generalizados
Broncopulmonar
Gástrico
Pancreático
Mamario
Hemopatías
Hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN)
Policitemia vera
Enfermedades inmunes
Dermatomiositis
Lupus eritematoso sistémico (LES)
Poliartritis reumatoide (PAR)
Nefropatías
Glomerulonefritis
SHU
Otras causas
Vasculopatías alérgicas
Sarcoidosis
Síndromes inflamatorios crónicos
Microangiopatía diabética
Hiperlipoproteinemias
Hipo o hipertermia maligna
Enfermedad de las membranas hialinas (recién nacidos)

penia, aumento de la concentración de productos de degradación del fibrinógeno (PDF) y disminución de la AT III. Una forma bien conocida de preeclampsia grave es el síndrome de hemólisis con hepatopatía y plaquetopenia conocido como HELLP (HE: *hemolysis*, L: *liver*, LP: *low platelets*) una de cuyas características es el aumento de la actividad plasmática de las enzimas hepáticas[49]. En el síndrome HELLP existe una plaquetopenia persistente, con afectación multisistémica, que puede llegar a complicarse con rotura hepática después del parto. Otras formas agudas de AHMA pueden aparecer también en el curso de accidentes obstétricos diversos, como embolia amniótica, rotura placentaria o síndrome de retención fetal.

Las *formas crónicas de AHMA* pueden asociarse con muchas enfermedades, y difieren en que su expresividad clínica es mucho menor que en las formas agudas, pudiéndose diagnosticar únicamente por los trastornos de la hemostasia (trombocitopenia, disminución del fibrinógeno, disminución de los factores V, VIII y XIII de la coagulación y aumento de los productos de degradación del fibrinógeno).

En caso de AHMA por *acción de agentes naturales físicos o químicos* debe señalarse la posible acción de quemaduras extensas, los traumas mecánicos y la derivación cardiopulmonar. Las quemaduras de áreas relativamente extensas de la superficie corporal ocasionan lesiones de la microvasculatura superficial de la piel junto con un efecto directo del calor sobre los eritrocitos. Como consecuencia de ello, los eritrocitos se deforman intensamente (piropoiquilocitos), y el examen morfológico de la extensión sanguínea muestra abundantes esquistocitos y algún microesferocito.

Los traumatismos mecánicos intensos y prolongados constituyen un ejemplo de cómo una presión cutánea persistente e intensa sobre un área dura (hueso) puede alterar los eritrocitos, la hemoglobinuria de la marcha. Este trastorno se produce por la lesión mecánica que ocasiona la marcha prolongada sobre la circulación superficial de la planta de los pies. Se caracteriza por hemoglobinuria intermitente, y afecta a personas jóvenes sometidas a marchas muy prolongadas (soldados y atletas). El proceso desaparece con el reposo[50]. La hemólisis de la derivación cardiopulmonar va acompañada de un síndrome febril con anemia y leucopenia. Aunque infrecuente, el contexto clínico en el que se observa facilita el diagnóstico.

Hemólisis tóxica

Existen ciertas sustancias tóxicas u oxidantes que, cuando penetran en el organismo (por inhalación, vía digestiva o parenteral), pueden actuar directamente sobre la membrana eritrocitaria y producir hemólisis (origen exógeno). Otras veces, las sustancias tóxicas u oxidantes proceden del propio organismo como consecuencia de algún trastorno metabólico adquirido (hipofosfatemia, hiperlipemia, uremia y otros) o congénito.

Hemólisis tóxica de origen exógeno

Entre las sustancias tóxicas que pueden ingresar en el organismo y causar hemólisis destacan ciertos compuestos, algunos de origen medicamentoso, cuya actividad intensamente oxidante puede explicar que, en algún caso, su administración pueda producir hemólisis (tabla 11.11). De hecho, se trata de los mismos agentes que pueden desencadenar la crisis hemolítica aguda en caso de enzimopatía (déficit de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa) o hemoglobinopatía (hemoglobinas inestables), pero administrados en dosis tan elevadas que lesionan directamente la membrana del eritrocito. En estos casos, es frecuente observar alteraciones morfológicas peculiares que ponen de manifiesto la agresión oxidativa, como por ejemplo los eritrocitos «mordidos» (*bitted-cells*) o con imágenes «en sacabocados» (fig. 11.10). Esta alteración morfológica también puede observarse cuando los eritrocitos, con defectos congénitos, son sometidos a un efecto oxidante, en general, mucho menos intenso.

Otros compuestos tóxicos son los metales pesados, como el plomo, cuya intoxicación crónica da lugar al saturnismo, el arsénico de los gases que pueden inhalar los trabajadores de refinerías metálicas, el oxígeno molecular cuando se inhala a máxima concentración (hemólisis de los astronautas) o cuando el agua penetra por vía respiratoria o parenteral (choque osmótico). En el caso del agua, sólo produce hemólisis cuando los eritrocitos circulantes entran en contacto directo con la hipotonía plasmática creada por el exceso de agua intravascular. Esto sucede en sujetos que sufren una entrada masiva de agua dulce (no agua de mar, que tiene el efecto contrario) por vía respiratoria, con inundación de los alvéolos (ahogamiento). Finalmente, el veneno de víboras (serpiente venenosa) contiene una enzima (fosfolipasa A) que,

TABLA 11.11

Sustancias con actividad hemolítica sobre eritrocitos normales

SUSTANCIAS CON POTENTE ACCIÓN OXIDANTE

Medicamentos
- Sulfonamidas
- Sulfonas (dapsona)
- Nitrofurantoína
- Sulfasalazina
- Salicilatos (ácido p-aminosalicílico)
- Fenazopiridina
- Fenacetina

Sustancias tóxicas no medicamentosas
- Cloratos
- Nitratos y nitritos
- Naftaleno
- Paraquat
- Oxígeno (O_2)
- Peróxido de hidrógeno (H_2O_2)
- Fenol
- Cresol
- Nitrobenceno
- Anilina y azul de metileno
- Fenilsemicarbazida
- Fenilhidrazina
- Hidroxilamina
- Pentaclorofenol

AGENTES QUÍMICOS SIN ACTIVIDAD OXIDANTE

Propiltiouracilo
Resinas (epóxidos)
Arsina (arseniuro de hidrógeno)
Derivados de antimonio
Plomo (saturnismo)
Cobre (hemodiálisis, enfermedad de Wilson)
Glicerina (intravenosa)
Derivados del cinc

Figura 11.10. Sangre periférica (MGG ×800) de un paciente afecto de hemólisis secundaria a estrés oxidativo (déficit de G6PD) o al efecto de un agente tóxico. Destaca el aspecto «mordido» (*bitted-cell*) del eritrocito señalado con una flecha.

liberada en el plasma, descompone los fosfolípidos de la membrana eritrocitaria en lipoderivados que, a su vez, deshacen la unión entre fosfolípidos y colesterol, y producen una desestructuración global de la misma, con intensa hemólisis intravascular e insuficiencia renal aguda.

Hemólisis tóxica de origen endógeno

Un ejemplo de esta posibilidad es la *enfermedad de Wilson* debida a un déficit congénito de ceruloplasmina (proteína que fija el cobre). Debido a ello, el cobre en plasma (cupremia) y orina (cupruria) se hallan muy aumentados. Ésta es una enfermedad que aparece preferentemente en sujetos jóvenes de ambos sexos y que va acompañada de signos clínicos y biológicos de hepatopatía (hiperbilirrubinemia directa) e intensa reticulocitosis. La sospecha diagnóstica de esta enfermedad viene dada por la observación de los anillos de Kayser-Fleischer[51]. Al parecer, el cobre tiene varios efectos, y uno de ellos es inhibir la enzima hexocinasa y bloquear la glucólisis. Otro efecto es el oxidativo directo sobre los eritrocitos. El tratamiento con penicilamina disminuye la cupremia y detiene el proceso hemolítico.

Ciertas enfermedades presentan trastornos del plasma que, de algún modo, inciden sobre los eritrocitos circulantes, originando diversas alteraciones de tipo metabólico. Así sucede en *hepatopatías* y *nefropatías,* en las que no es infrecuente observar cierto grado de hemólisis de repercusión muy escasa en el contexto del proceso, pero cuyo mecanismo, casi siempre multifactorial, resulta difícil de determinar. Así, en la cirrosis hepática, el componente hemolítico puede contribuir a la anemia del paciente, aunque casi siempre en grado mucho menor que otras causas diversas, entre las que destacan la hemorragia digestiva, ferropenia, déficit de folatos y el hiperesplenismo, principalmente. En general, la anemia del cirrótico va acompañada de alteraciones morfológicas eritrocitarias, como macrocitosis y/o codocitosis (eritrocitos «en diana») secundarias la mayoría de las veces al aumento de la relación superficie/volumen eritrocitario. El predominio del componente hemolítico puede producirse en los casos de insuficiencia hepatocelular grave, especialmente en la debida a la intoxicación crónica por alcohol. En este caso, es característica la aparición de una intensa anemia hemolítica, con abundantes acantocitos (*spurr-cells*) circulantes. El mecanismo íntimo de este tipo de hemólisis no es aún bien conocido, aunque se atribuye no sólo al trastorno de los lípidos plasmáticos sino también al efecto directo del hígado lesionado sobre los eritrocitos cuando atraviesan su sistema vascular. Una forma muy grave de hemólisis metabólica adquirida es el llamado *síndrome de Zieve,* que se observa en individuos con degeneración grasa del hígado por efecto del alcohol. Este síndrome se caracteriza por episodios de hemólisis aguda, con ictericia y dolor abdominal intensos, después de una abundante ingesta de alcohol. Junto con las alteraciones morfológicas eritrocitarias (acantocitosis), el síndrome de Zieve se caracteriza también por hiperlipemia.

Finalmente, en la *insuficiencia renal* se han descrito también efectos hemolíticos por parte de derivados metabólicos (guanidínicos, principalmente) cuya concentración plasmática se halla aumentada debido a su escasa eliminación urinaria. La alteración metabólica eritrocitaria en la insuficiencia renal puede ponerse de manifiesto por la aparición de equinocitos o *burr-cells* (fig. 11.11).

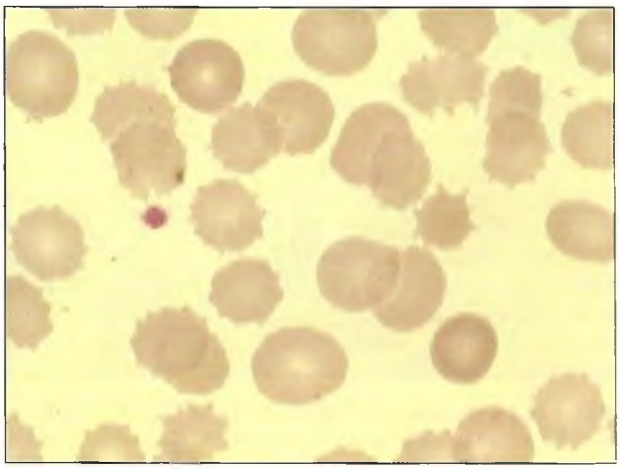


Figura 11.11. Equinocitos (*burr-cell*) y policromasia en un paciente con insuficiencia renal.

Hemólisis por infecciones o parásitos

La hemólisis en el curso de las infecciones agudas y crónicas constituye una complicación muy poco frecuente, pero cuando aparece contribuye a agravar el cuadro clínico. Así sucede en la septicemia por *C. welchii* (*C. perfringens*) o por otros gérmenes (estreptococos, neumococos, estafilococos, *E. coli*, meningococo, *H. influenzae*, *Salmonella* y *Aspergillus*), donde el mecanismo de la hemólisis, además de la eventual AHMA, puede consistir también en una agresión directa del eritrocito por parte del germen o de sus toxinas (lecitinasa del *C. welchii*)[52]. En estos casos, la hemólisis de tipo intravascular se caracteriza por la presencia de abundantes microesferocitos en sangre periférica. Otro microorganismo cuya infección puede ocasionar una anemia hemolítica es el bacilo gramnegativo *Bartonella bacilliformis*, que se adhiere a la superficie externa del eritrocito sin penetrar en él. Su reservorio es un flebotomo que habita determinadas áreas de Sudamérica (Perú, Ecuador y Colombia), y cuyo contagio humano se realiza a través de la picadura de insectos o ácaros. El cuadro clínico se caracteriza por una intensa anemia, con adenomegalias y fiebre elevada (fiebre de Oroya). El diagnóstico puede realizarse con facilidad mediante el examen morfológico de la extensión de sangre que, junto con una acentuada eritroblastosis, muestra la presencia del parásito fijado a la superficie externa de los eritrocitos.

Ciertos protozoos, al infectar el organismo, son capaces también de actuar directamente sobre la membrana eritrocitaria y producir hemólisis. Así, en ciertas parasitosis, la anemia hemolítica adquiere gran relevancia clínica cuando el parásito penetra de alguna forma en el interior del eritrocito, ya que facilita su rotura o la fagocitosis por el SMF. Entre los parásitos que penetran en el interior de los eritrocitos destacan dos protozoos: *Plasmodium* en sus diferentes variedades *P. malariae*, *P. ovale*, *P. vivax* o *P. falciparum* causante del paludismo o malaria, y *B. microtti* que provoca la babesiosis. El parásito del paludismo contagia al organismo por picadura del mosquito reservorio, y penetra en el interior del eritrocito por endocitosis, previa unión entre el plasmalema del parásito y la banda 3 (proteína integral) de la membrana eritrocitaria. El mecanismo fisiopatológico de la hemólisis es la rotura o estallido del eritrocito a consecuencia de la multiplicación del parásito en su interior. La fase eritrocitaria es una de las que componen el ciclo vital del parásito en el organismo humano. Existen situaciones, tales como ciertos defectos congénitos del eritrocito, que al impedir el desarrollo de este ciclo vital, evitan la infección del individuo por el parásito del paludismo (malaria), lo que genera una protección frente a éste (fig. 11.12). Ello explica la prevalencia de estos trastornos genéticos en aquellas áreas geográficas donde el paludismo es o ha sido endémico.

Existen otros factores que pueden agravar el cuadro anémico del paludismo, como, por ejemplo, la inhibición de la eritropoyesis y la aparición de anticuerpos contra el parásito o contra el medicamento utilizado para tratar el paludismo (anemia hemolítica inmunoalérgica). Si el paciente es portador de un déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD), la administración de antipalúdicos también puede ser causa de un síndrome hemolítico agudo. La intensidad del cuadro anémico depende de las características biológicas del parásito. Así, la infección por *P. falciparum* va acompañada de anemia acusada, debido a que el parásito invade todos los eritrocitos, incluso los más viejos. Por el contrario, otras formas de parasitosis como la debida a *P. vivax* o a *P. ovale*, que invaden sólo los eritrocitos más jóvenes, o a *P. malariae* (malaria cuartana), que ataca exclusivamente a los más viejos, se acompa-

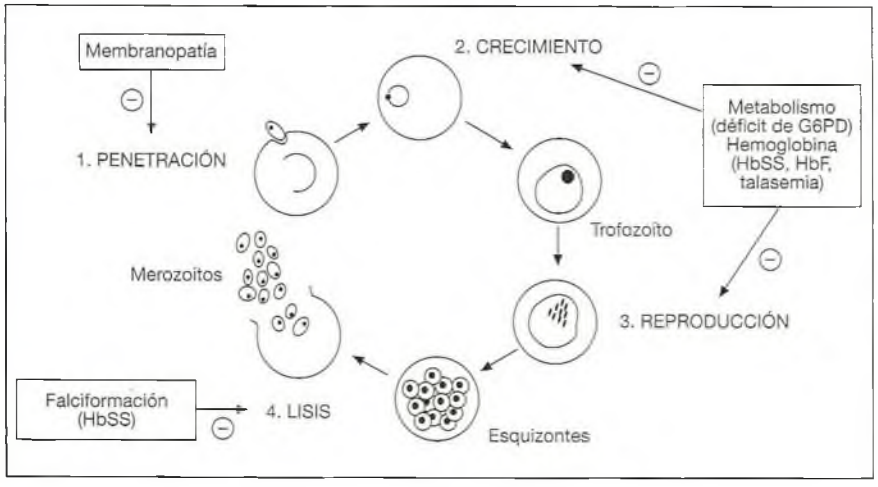


Figura 11.12. Ciclo del parásito del paludismo (*Plasmodium falciparum*) y formas de bloqueo que pueden ejercer diferentes trastornos congénitos del eritrocito: eliptocitosis congénita, hemoglobinopatía S, talasemias, aumento de HbF y déficit de G6PD.

ñan de un cuadro anémico mucho menos intenso. En cualquier caso, junto con el síndrome anémico, se aprecian las características clínicas de la parasitosis, como accesos cíclicos de fiebre cada 24-72 horas, precedidos de escalofríos, mialgias, cefaleas, náuseas y sudoración profusa. El diagnóstico, además de las características del cuadro clínico, debe basarse en el antecedente del contacto previo con áreas endémicas y en la observación del parásito en la extensión simple de sangre (fig. 11.13) o mediante gota gruesa.

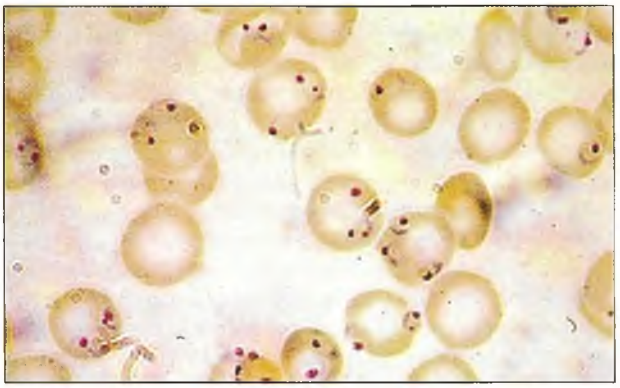


Figura 11.13. Eritrocitos parasitados por *Plasmodium falciparum* en un paciente con paludismo (malaria). Extensión de sangre periférica teñida con MGG (×800).

Una complicación del paludismo es la llamada «fiebre del agua negra» (*black water fever*), caracterizada por una intensa anemia hemolítica y hemoglobinuria que conlleva, en muchas ocasiones, la muerte del paciente por insuficiencia renal aguda. Esta complicación se observa sólo en las regiones tropicales con paludismo endémico, y en su mecanismo fisiopatológico, además del efecto del parásito, se cree que se sobreañade un mecanismo inmune.

La babesiosis es mucho menos frecuente que el paludismo y, a diferencia de aquél, la rata es el reservorio natural del parásito. Clínicamente, cursa con anemia de intensidad variable y, de forma ocasional, con insuficiencia renal que puede causar la muerte del paciente. El diagnóstico se basa esencialmente en un atento examen morfológico de la extensión de sangre y en la observación del parásito (anillo rojo similar al *Plasmodium*) en el interior de los eritrocitos.

En otras parasitosis, como la leishmaniasis (Kala-azar), la hemólisis obedece principalmente a la hiperactividad del SMF, aunque algunos autores consideran también un componente inmune mediado por el complemento. Esta enfermedad está provocada por el parásito *L. donovani*, y clínicamente cursa con un cuadro febril seudopalúdico, intensa esplenomegalia y alteraciones de las inmunoglobulinas del plasma. El diagnóstico se basa en la observación, a partir del aspirado de médula ósea o punción esplénica, de macrófagos repletos del parásito (fig. 11.14).

Hiperesplenismo

El bazo es, junto con sus funciones defensivas (especialmente durante la primera infancia), el órgano encargado de eliminar las células circulantes de la sangre al finalizar su ciclo vital fisiológico (función *culling*). Asimismo, contribuye a limpiar las células de defectos para preservar su superviven-

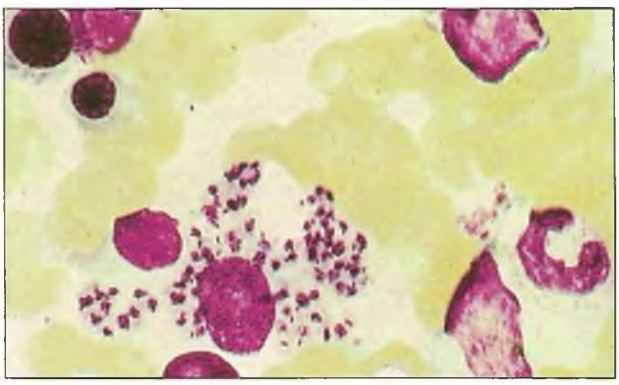


Figura 11.14. Parásitos de *Leishmania* en el interior de un macrófago. Examen morfológico de un aspirado de médula ósea en un paciente con fiebre y esplenomegalia debido a enfermedad de Kala-azar (MGG ×1.000).

TABLA 11.12

Causas de hiperesplenismo

ANEMIAS HEMOLÍTICAS CONGÉNITAS
Esferocitosis hereditaria
Eliptocitosis congénita
β-talasemia mayor
Anemia falciforme
CITOPENIAS INMUNES
Púrpura trombopénica inmune (PTI)
Neutropenia inmune
Anemia hemolítica autoinmune
INFECCIONES
Mononucleosis infecciosa
Endocarditis bacteriana subaguda
Paludismo
Esquistosomiasis
Tuberculosis miliar
Leishmaniasis
Brucelosis
SÍNDROMES INFLAMATORIOS CRÓNICOS
Lupus eritematoso sistémico (LES)
Artritis reumatoide (síndrome de Felty)
Sarcoidosis
SÍNDROMES CONGESTIVOS
Cirrosis hepática
Trombosis de la vena porta
Obstrucción de la vena esplénica
Síndrome de Budd-Chiari
Insuficiencia cardíaca congestiva
ENFERMEDADES INFILTRATIVAS
Linfomas
Tricoleucemia
Policitemia vera
Mielofibrosis idiopática
Enfermedad de Gaucher
Enfermedad de Niemann-Pick
Amiloidosis
Glicogenosis
TUMORES Y QUISTES ESPLÉNICOS
MECANISMO IDIOPÁTICO

cia en la circulación. Entre esta última función destaca la de eliminar cuerpos de inclusión intraeritrocitarios, como restos de DNA, que muchas veces persisten despues de su salida desde la médula ósea a la circulación (función *pitting*). Cuando el bazo aumenta de tamaño (esplenomegalia), aumentan también sus funciones *culling* y *pitting* con lo que suele producirse una mayor retención de células sanguíneas. Aunque la principal manifestación de este fenómeno suele ser la anemia (anemia y esplenomegalia de la hipertensión portal, por ejemplo) no es infrecuente la coexistencia de leucopenia y trombocitopenia con lo que, en algunos casos, puede observarse un cuadro clínico de pancitopenia por hiperesplenismo. Algunas de las principales causas de hiperesplenismo se resumen en la tabla 11.12.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cunningham J, Silberstein LE. Autoimmune Hemolytic Anemia. En: Hoffman R, Benz EB, Shattil S et al (eds.). Hematology Basic Principles and Practice, 4.ª ed. 2005. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005; 693-718.
2. Packman CH. Adcquired Hemolytic Anemia due to Warm-Reacting Autoantibodies. En: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS Kipps TJ Seligsohn M (eds.). Williams Hematology, 6.ª ed. New York: Mac Graw Hill, 2001; 339-648.
3. Petz LD, Garraty G. Adquired Immune Hemolytic Anemias. New York: Churchill Livingstone, 1980.
4. Jandl JH. Immunohemolytic anemias. Blood, 2.ª ed. Little Brown, 1996; 421-471.
5. Parker CJ, Foerster J. Mechanisms of Immune Destruction of Erythrocytes. En: Greers JP, Glader BE, Paraskevas F, Rodgers GM, Foerster J, Lukens JN (eds.). Wintrobe's Clinical Hematology, 11.ª ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2003.
6. Shlomchik MJ. Mechanisms of immune self-tolerance and how they fail in autoimmune disease. En: Siberstein L (ed.). Autoimmune Disorders of Blood. American Association of Blood Banks, 1996; 1-34.
7. Dacie J. The Haemolytic Anaemias. Vol. 3 The Auto-Immune Haemolytic Anaemias, 3.ª ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1992.
8. Evans RJ, Takahashi L Duane RT, Payne R, Liu CK. Primary thrombocytopenia purpura and acquired hemolytic anemia: evidence of a common aetiology. Arch Intern Med 1951; 87:48-65.
9. Vives JLI, Aguilar JLI. Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematologia, 2.ª ed. Masson, 1997.
10. Gilliland BR, Baxter E, Evans RS. Red cell antibodies in acquired hemolytic anemia with negative antiglobulin test. N Engl J Med 1971; 285:252-256.
11. Sokol RL, Hewitt HS, Booker DJ, Stamps R. Small quantities of erythrocyte bound immunoglobulins and autoimmune haemolysis. J Clin Pathol 1987; 40:254-257.
12. Margaret EW, Levitt JS. Current applications and interpretations of the direct antiglobulin test. American Association of Blood Banks, Arlington, 1988.
13. Chaplin H. Immune hemolytic anemias. En: Methods in Hematology. Churchill Livingstone, 1985.
14. Murphy S, LoBuglio AF. Drug therapy in autoimmune hemolytic anemia. Semin Hematol 1976; 13:323-334.
15. Gibson J. Autoimmune hemolytic anemia: Current concepts. Aust NZ J Med 1988; 18:625-637.
16. Worledge SM. Immune haemolytic anaemia En: Hardisty RM, Weatherall DJ (eds.). Blood and its Disorders. Blackwell Scientific, 1982; 479-513.
17. Majer RV, Hyde RD. High dose intravenous immunoglobulin in the treatment of autoimmune haemolytic anaemia. Clin Lab Haematol 1988; 10:391-395.
18. Ahn YS, Harringhton WJ, Mylvaganam R et al. Danazol therapy for autoimmune hemolytic anemia. Ann Int Med 1985; 102:298-303.
19. Kutti J, Wadenvik H, Safai-Kutti S et al. Succesful treatment of refractory autoimmune haemolytic anaemia by plasmapheresis. Scand J Haematol 1984; 32:149-152.
20. Silberstein LE, Robertson GA, Harris AC et al. Etiologic aspects of cold agglutinin disease: Evidence for cytogenetically defined clones of lymphoid cells and the demonstration that an anti-Pr cold autoantibody is derived from a chromosomally aberrant B cell clone. Blood 1986; 67:1705-1709.
21. Schwartz RS, Berkman EM, Silberstein LE. The Autoimmune Hemolytic Anemias. En: Hoffmann R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ (eds.). Hematology. Churchill Livingstone, 1991.
22. Heddle NM. Acute paroxysmal cold hemoglobinuria. Transfus Med Rev 1989; 3:219-229.
23. Thomas AT. Autoimmune Hemolytic Anemias. En: Lee R, Forester J, Lukes J et al (eds.). Wintrobe's Clinical Hematology, 10.ª ed. Williams & Willkins, 1999.
24. Gelabert A, Argelagues E, Puig L. Hemoterapia en Hematología Clinica. Ediciones Toray, 1983.
25. Ramasethu J, Luban NLC Alloimmune hemolytic disease in the newborn. En: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn M (eds.). Williams Hematology 6.ª ed, New York: McGraw Hill, 2001; 665-676.
26. Diamond LJ, Blackfan KD, Baty JM. Erythroblastosis fetalis and its association with universal edema of the fetus, icterus gravis neonatorum and anemia of the newborn. J Pediatr 1932; 1:269-309.
27. Bowman JM. Alloimmune Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn. En: Lee R, Forester J, Lukes J et al (eds.). Wintrobe's Clinical Hematology, 10.ª ed. Williams & Wilkins, 1999; 1210-1232.
28. Petz LD, Fudenberg HH. Coombs-positive hemolytic anemia caused by pennicilin administration. N Engl J Med 1966; 274:171-178.
29. Worlledge SM. Immune drug-induced hemolytic anemias. Semin Hematol 1969; 6:181-200.
30. Mueller-Eckhardt C, Salama A. Drug-induced immune cytopenias: A unifying pathogenetic concept with special emphasis on the role of drug metabolites. Transfus Med Rev 1990; 4:69-77.
31. Parker CJ, Lee GR. Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. En: Lee R, Forester J, Lukes J et al (eds.). Wintrobe's Clinical Hematology, 10.ª ed. Williams & Willkins, 1999; 1264-1288.
32. Beutler E. En: Williams Hematology. Beutler E, Lichtman MA, Coller BS Kipps TJ Seligsohn M (eds.), 6.ª ed. New York: McGraw Hill, 2001; 419-424.
33. Bessler M, Mason PJ, Hillmen P et al. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria (PNH) is caused by somatic mutations in the PIG-A gene. EMBO J 1994; 13:110-115.
34. Rosse WF. Phoshatidylinositol-linked proteins and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood 1990; 75:1595-1599.
35. Endo M, Ware RE, Vreeke TM et al. Molecular basis of the heterogeneity of expression of glycosyl phosphatidylinositol anchored proteins in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood 1996; 87:2546-2557.
36. Bessler M, Mason P, Hillmen P, Luzzatto L. Somatic mutations and cellular selection in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. Lancet 1994; 343:951-953.
37. Rosse WF, Parker CJ. Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. Clin Haematol 1985; 14:105-125.
38. Hall SE, Rosse WF. The use of monoclonal antibodies and flow cytometry in the diagnosis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood 1996; 87:5332-5340.
39. Kawahara K, Witherspoon RP, Storb R. Marrow transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Am J Hematol 1992; 283-288.
40. Foerster J. Red Cell Fragmentation Syndromes. En: Lee R, Forester J, Lukes J et al (eds.). Wintrobe's Clinical Hematology, 10.ª ed. Williams & Willkins, 1999; 1305-1328.
41. Pirofsky B. Aortic valve surgery and autoimmune hemolytic anemia. Am Heart J 1965; 70:426-429.
42. García MJ, Vandervoort P, Stewart W et al. Mechanism of Hemolysis with Mitral Prosthetic Regurgitation. Study Using Transaesophagal Echocardiography and Fluid Dynamic Simulation. J Am Coll Cardiol 1996; 27:399-406.

CAPÍTULO 12

Introducción al concepto y nosología de las mielopatías primarias. Semiología de la dishemopoyesis

J. Sans-Sabrafen y S. Woessner

ÍNDICE

Introducción
Semiología de la dishemopoyesis
Importancia práctica del concepto de mielopatía primaria
Bibliografía

INTRODUCCIÓN

Las mielopatías primarias comprenden un conjunto heterogéneo de cuadros hematológicos debidos a anomalías clonales de las células germinales hematopoyéticas que se acompañan de trastornos cariotípicos y moleculares, y que cursan con alteraciones morfológicas de las distintas series hematopoyéticas.

En el Capítulo 1 se estudian las células germinales hematopoyéticas o células madre pluripotentes (*stem cells*) y las células derivadas de ellas. Las células germinales corresponden a células mononucleadas agranulares con una alta relación núcleo/citoplasmática que expresan CD34 y CD117, entre muchos otros antígenos[1].

La normalidad morfológica y funcional de la hematopoyesis requiere, entre otros requisitos, la normalidad de las células germinales. Si éstas resultan dañadas, la hematopoyesis se altera, lo cual se traduce en la presencia de alteraciones morfológicas cualitativas (que se designan con la denominación global de dishemopoyesis morfológica) y cuantitativas diversas.

Diversos episodios moleculares están implicados en la patogenia de una hematopoyesis ineficaz, la cual es especialmente evidente en los síndromes mielodisplásicos (SMD)[2]. Una de las posibles explicaciones del hecho paradójico de una gran riqueza medular acompañada de una pobreza celular periférica (citopenia/s) es atribuible, por lo menos en parte, a una apoptosis incrementada. La apoptosis es un fenómeno biológico complejo que conduce, indefectiblemente, a la fragmentación nuclear y, en consecuencia, a una muerte celular programada; ésta no sólo se constata en las células hematopoyéticas sino también en las de la estroma, contribuyendo al deterioro del microambiente, al desequilibrio en la producción de citocinas y al desarrollo alterado de las células germinales[3].

En las formas menos agresivas de SMD (anemia refractaria simple [AR] y anemia refractaria sideroblástica [ARS]) se registra un aumento de la apoptosis en la médula ósea, con

una cierta contención de la proliferación blástica; por el contrario, en los SMD más agresivos, como en la anemia refractaria con exceso de blastos, puede registrarse una apoptosis disminuida, lo cual favorece la acumulación de células blásticas y su progresión a leucemia aguda.

Se van conociendo mejor los diversos factores que estimulan la vía extrínseca e intrínseca de la apoptosis. Así, por ejemplo, el antígeno definido por el anticuerpo monoclonal anti-FAS (CD95) puede inducir apoptosis. Diversas citocinas, como el factor de necrosis tumoral (TNF) y los interferones (IFN), entre otros, desempeñan un papel importante como vía inductora de la apoptosis, así como un desequilibrio entre la expresión de diversos genes proapoptóticos y antiapoptóticos, a favor de los primeros. De las anomalías génicas con mayor implicación patogénica en los SMD[2] destacan las mutaciones puntuales de los protooncogenes de la familia *N-ras*, con su consiguiente activación y la inactivación de genes supresores, como el *p53* y el *p15*, por mutaciones puntuales o por hipermetilación, respectivamente. La sobreexpresión del gen *bcl-2*, debida a la t(14;18), tiene por consecuencia una acentuada inhibición del fenómeno apoptótico. La proteína denominada apoptina, que induce apoptosis en las células tumorales pero no en células diploides normales, es otro mecanismo apoptótico independiente de la proteína p53, pero estimulada por la proteína bcl-2. Se conocen, asimismo, anomalías de genes que codifican enzimas detoxificantes de diversos carcinógenos químicos, y que podrían conferir una predisposición genética al fallo hematopoyético[4]. El acortamiento progresivo de los telómeros que se produce con la edad podría condicionar una capacidad cada vez más limitada de reparación de las agresiones sufridas por el ácido desoxirribonucleico (DNA)[5]. El gran interrogante, y a la vez esperanza, es si estos conocimientos moleculares podrán ser en el futuro la base para el hallazgo de nuevas dianas terapéuticas en los SMD, como ya ha ocurrido con la leucemia mieloide crónica BCR/ABL positiva.

La denominación de mielopatía primaria no pretende aludir artificialmente a un concepto etiológico y patogénico exigente sino que persigue, tan sólo, constituirse en un concepto clinicopráctico que permita al hematólogo disponer de una base clasificatoria más o menos clara y, a la vez, catalogar, siquiera un tanto genéricamente y, a menudo, de forma provisional, un cuadro hematológico que, por ser incipiente o confuso, no puede adscribirse a una entidad concreta. En la tabla 12.1 se esboza una clasificación de las mielopatías primarias.

Aparte de las mielopatías primarias, también pueden producirse alteraciones mielopáticas secundarias, con expresión morfológica afín, a consecuencia de la acción nociva medular derivada de la acción de agentes infecciosos, cuyo paradigma es la infección por el VIH, fármacos citostáticos, inmunosupresores como el mofetil micofenolato, radiaciones u otras circunstancias clinicopatológicas menos relevantes, pero que obligan a ser descartadas antes de catalogar una mielopatía como primaria.

SEMIOLOGÍA DE LA DISHEMOPOYESIS

El diagnóstico de la mielopatía se basa, fundamentalmente, en la presencia de alteraciones morfológicas cualitativas que se describen con la denominación de dishemopoyesis (tabla 12.2). Estas alteraciones pueden ser mínimas en las mielopatías importantes, como la aplasia medular o la hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN), pero, mucho más a menudo, resultan muy aparentes, sea como rasgo único y definitorio (ARS) o como acompañantes de otras alteraciones valorativamente prioritarias, como ocurre con las leucemias agudas mieloides, en las que la blastosis dominante va acompañada de importantes rasgos dishemopoyéticos de las células restantes. La displasia eritroide alcanza su máximo grado de expresividad en las anemias diseritropoyéticas congénitas[6].

TABLA 12.1

Enumeración de las principales mielopatías primarias

Enfermedades proliferativas
- Leucemia mieloide crónica BCR/ABL positiva
- Síndromes mieloproliferativos crónicos:
  - Policitemia *vera*, trombocitemia esencial, mielofibrosis idiopática y otros
- Síndromes mielodisplásicos
- Síndromes mielodisplásicos/mieloproliferativos crónicos
- Leucemias agudas mieloides

Enfermedades deficitarias
- Aplasia medular idiopática
- Eritroblastopenias varias
- Neutropenias mielopáticas varias
- Trombocitopenias mielopáticas varias

Enfermedades complejas
- Hemoglobinuria paroxística nocturna

La cuantificación diseritropoyética se valora sobre un mínimo de 100 eritroblastos y de varios centenares de eritrocitos. Las anomalías eritroblásticas se traducen, por lo general, en una anemia con muy frecuentes rasgos megaloblásticos y, a menudo, con un patrón ferrocinético de eritropoyesis ineficaz. En los hematíes se debe conceder especial valor patológico a los anillos de Cabot, mientras que se otorga menor significado a otros signos, como un tenue punteado basófilo, ya que puede obedecer incluso a un fenómeno artefactual.

La anisocromía, si no obedece a un acto transfusional reciente, es indicativa de doble población, una normal y la otra patológica, y se constituye en uno de los signos guía de los SMD. También pueden observarse distintas alteraciones bioquímicas, como hematíes HPN-símiles, elevaciones de la hemoglobina fetal y/o A_2, alteraciones de la dotación enzimática intraeritrocitaria y de los antígenos de membrana, así como eventuales cambios de los grupos sanguíneos. En los eritroblastos destaca la presencia de más de un núcleo (binuclearidad y, sobre todo, multinuclearidad), formas gigantes de aspecto poliploide, irregularidades del contorno nuclear, cariorrexis, alteraciones cromatínicas, especialmente transformación megaloblástica y picnosis, vacuolización, puentes internucleares, intercitoplásmicos, fenómeno sideroacréstico, gránulos hemosiderínicos en número y tamaño excesivos, y agregados de glucógeno (fig. 12.1), así como otras alteraciones sólo evidenciables ultraestructuralmente[7].

La reacción de Perls evidencia la sideroacresta aludida y permite descubrir los sideroblastos patológicos y, en especial, las formas anilladas. La PAS positividad eritroblástica o eritrocítica siempre es patológica y de observación frecuente en las mielopatías. La displasia es más acentuada cuanto más

TABLA 12.2

Signos morfológicos de la dishemopoyesis

Displasia eritroblástica (diseritropoyesis)
- Nuclear
  - Binuclearidad o multinuclearidad
  - Aspecto poliploide, gigantismo
  - Lobulaciones, apéndices
  - Indentaciones
  - Contorno nuclear irregular
  - Puentes internucleares
  - Cariorrexis
  - Cuerpos de Howell-Jolly
  - Picnosis cromatínica
  - Cromatina megaloblástica
  - Mitosis anómalas
- Citoplásmica
  - Vacuolización
  - Punteado basófilo
  - Precipitados de cadenas hemoglobínicas
  - Distribución hemoglobínica no homogénea
  - Puentes intercitoplasmáticos
- Anomalías citoquímicas
  - Eritrocitos/eritroblastos PAS-positivos
  - Sideroblastos patológicos (tipo III y en anillo)

Displasia granulopoyética (disgranulopoyesis)
- Nuclear
  - Hiposegmentación (aspecto seudo Pelger)
  - Núcleo de aspecto anular
  - Hipersegmentación
  - Apéndices nucleares
  - Mitosis anómalas
  - Imagen en espejo
  - Condensación cromatínica anómala
- Citoplásmica
  - Hipogranularidad/agranularidad
  - Vacuolización
  - Cuerpos de Döhle
  - Granulación gigante/refuerzo de la granulación
- Anomalías citoquímicas
  - Déficit parcial o total de mieloperoxidasa
  - Déficit parcial o total de cloroacetatoesterasa
  - Descenso de la fosfatasa alcalina granulocítica
  - Descenso de la lactoferrina
  - Aumento de la muramidasa
  - Distribución anómala del material PAS-positivo

Displasia megacariocítica/trombocítica (dismegacariopoyesis/distrombopoyesis)
- Megacariocitos de aspecto hipoploide (microformas)
- Megacariocitos de núcleo único
- Megacariocitos hipersegmentados
- Megacariocitos agranulares
- Micromegacariocitos circulantes en sangre
- Núcleos desnudos de megacariocitos
- Plaquetas gigantes (Bernard-Soulier-símil)
- Plaquetas hipogranulares (azules o grises)
- Plaquetas vacuolizadas (en queso suizo)
- Plaquetas con seudonúcleo (centralización de organelas)
- Plaquetas con gránulos gigantes
- Plaquetas con prolongaciones seudopódicas
- Distribución anómala del material PAS-positivo

madura es la célula, lo cual se explica por la acción protectora que ejerce el retículo endoplasmático rugoso, más abundante en las células jóvenes, sobre la membrana nuclear, a cuya alteración obedece una parte considerable de los rasgos dismórficos.

En las afecciones de células germinales, la diseritropoyesis suele constituir sólo un aspecto parcial de una dishemopoyesis global[8], que afecta también a la granulopoyesis (disgranulopoyesis) y a la trombopoyesis (distrombopoyesis).

Los fenómenos disgranulopoyéticos pueden referirse al núcleo o al citoplasma[9]. Entre los primeros, destaca la hiposegmentación nuclear con cromatina hipercondensada que simula la anomalía constitucional de Pelger-Hüet. Dicho aspecto no debe interpretarse erróneamente como una desviación a la izquierda del hemograma de Schilling, en cuyo caso se asocia con diversos fenómenos toxicodegenerativos, como granulación tóxica y vacuolización, y su persistencia es efímera. Por el contrario, la hiposegmentación nuclear (bilobulación, formas bastonadas) como expresión de mielopatía, se asocia habitualmente con un citoplasma desgranulado. La coexistencia en una misma célula de hiposegmentación nuclear e hipogranularidad o agranularidad es el valor de referencia de los SMD. Los cuerpos de Döhle muestran la persistencia anómala del sistema reticuloendoplasmático rugoso, y tienen una morfología algo distinta a los observados en situaciones diversas (enfermedades virales, grandes quemaduras, escarlatina, acción de determinados citostáticos, gestación normal, etc.) o en el caso de anomalías constitucionales debidas a mutaciones del gen *MHY9* (anomalía de May-Hegglin, síndromes de Fechtner, Sebastian y Epstein).

En ocasiones, los dos segmentos nucleares están totalmente individualizados, con una configuración semejante, ofreciendo la imagen reflejada en un espejo. Los núcleos en anillo constituyen otro tipo de hiposegmentación en la que se advierte un núcleo único con un gran agujero central, como ocurre en condiciones fisiológicas en la granulopoyesis murina. Se advierte en algunos síndromes mielodisplásicos y mieloproliferativos, aunque también puede observarse en otras circunstancias patológicas. Una anormal y peculiar condensación cromatínica configura un subtipo de leucemia mieloide crónica atípica. La hipersegmentación nuclear, generalmente asociada a gigantismo celular (pleocariocitos), se observa en anemias graves o más banales, como las anemias ferropénicas. La hipersegmentación radial observada en la rara situación congénita de mielocatexis casi siempre es debida a un artefacto provocado por la acción prolongada de un anticoagulante o por una citocentrifugación en condiciones técnicas no óptimas. Diversos apéndices nucleares distintos a los palillos de tambor (*drumsticks*) completan el amplio espectro dismórfico.

Las alteraciones citoplasmáticas también son variadas y merecen una valoración distinta. La desgranulación, sobre todo si afecta a una fracción de los polinucleares, indica doble población, con sospecha de enfermedad clonal. La desgranulación puede deberse a una ausencia real de granulación (primaria o secundaria) o a una apetencia tintorial alterada de ésta. Sólo el examen ultraestructural o el citoquímico permiten desvelar la incógnita. Hay que desconfiar de una desgranulación que afecte a todos los neutrófilos y que, en principio, es atribuible a un defecto técnico de la tinción o a la presencia de una proteína anómala que impide la correcta actuación del colorante. Fuera del contexto de los síndromes

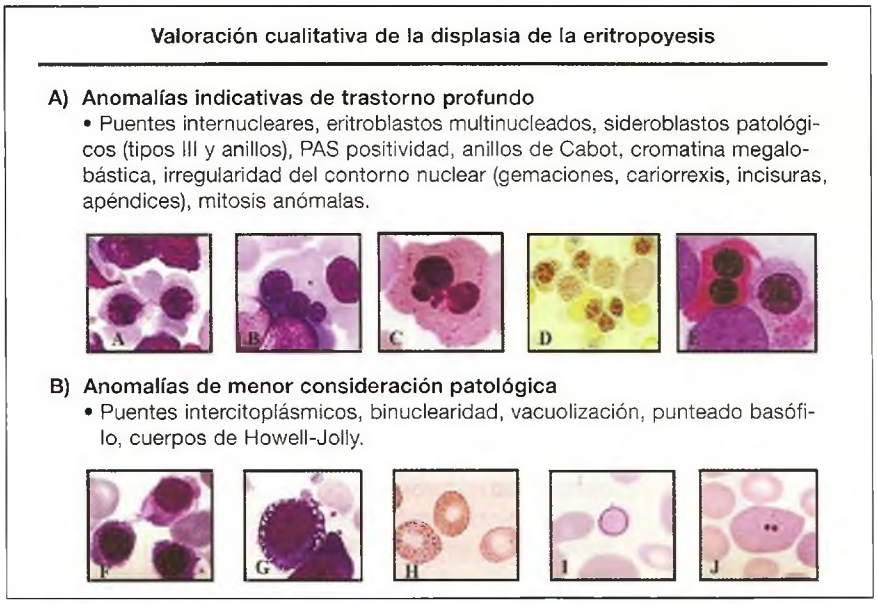


Figura 12.1.
a) puente internuclear.
b) multinuclearidad.
c) contorno nuclear irregular.
d) sideroblastos en anillo.
e) eritroblasto bilobulado PAS positivo.
f) puente intercitoplasmático.
g) vacuolas citoplasmáticas.
h) punteado basófilo.
i) anillo de Cabot.
j) cuerpos de Jolly.

mielodisplásicos, puede hallarse algún polinuclear desgranulado, atribuible a hiperconsumo, ante situaciones sépticas, en cuyo caso va acompañado de vacuolización (vacuolas fagocíticas) y ausencia de alteraciones nucleares. Con menor frecuencia, la desgranulación afecta también a la granulopoyesis eosinófila y basófila (figs. 12.2 y 12.3).

La reacción citoquímica de la mieloperoxidasa o de la cloroacetatoesterasa es útil para evidenciar la doble población leucocitaria; la normal tendrá un contenido adecuado de ambas enzimas, mientras que la clona patológica puede ser francamente deficitaria. El déficit congénito de mieloperoxidasa afecta a la población neutrófila en su totalidad. Asimismo, una positividad conjunta de α-naftilbutiratoesterasa y de cloroacetatoesterasa indica un profundo trastorno.

Las dismorfias morfológicas que afectan la serie megacariocítica-plaquetaria ofrecen singular relevancia (fig. 12.4). Resulta obligado proceder a un examen de un mínimo de 25 elementos megacariocíticos. La desgranulación también puede afectar a esta serie. Los megacariocitos hipogranulares poseen un citoplasma de aspecto hialino (no basófilo, a diferencia de los megacariocitos inmaduros) y un núcleo maduro. Algunos autores los consideran marcadores específicos de los SMD al haberlos hallado en algo más del 80%, frente al 1,4% hallados en sujetos normales y explicables a través del concepto de dismegacariopoyesis fisiológica[10]. La hipolobulación nuclear con megacariocitos de núcleo único o doble es, al igual que en la granulopoyesis, un signo dismórfico muy importante. Si su frecuencia supera el 50% en unas células de citoplasma relativamente amplio (> 30 μ) debe sospecharse el síndrome 5q–, una nueva categoría de SMD incluida en la clasificación de la OMS. Hasta el 10% de megacariocitos hipolobulados pueden hallarse en situaciones diversas, incluso en individuos sanos. La presencia de megacariocitos con núcleos múltiples no conexionados es de

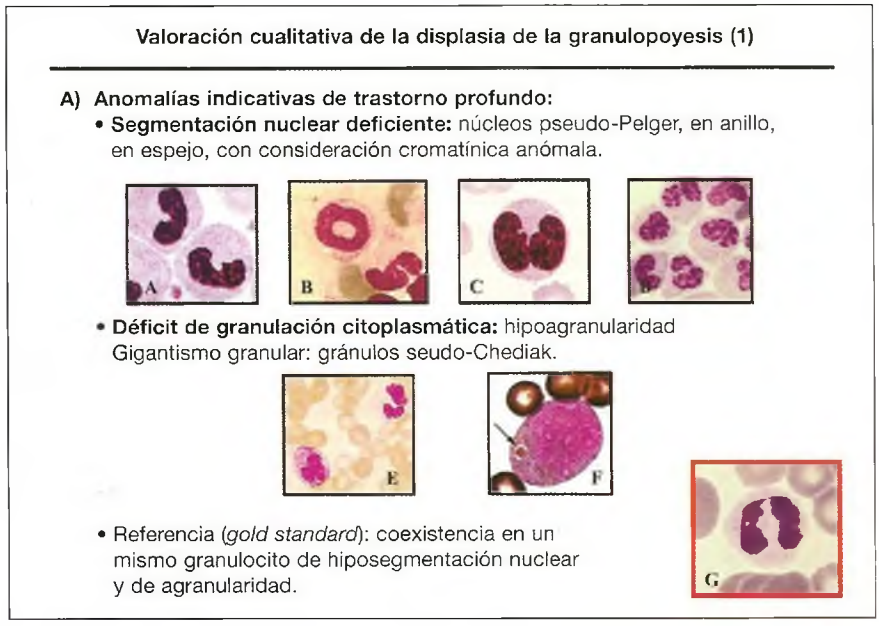


Figura 12.2.
a) núcleos seudo-Pelger.
b) núcleo en anillo.
c) núcleo con imagen en espejo.
d) núcleos hiposegmentados y con cromatina anormalmente condensada.
e) granulocito bien granulado y otro desgranulado.
f) gránulo gigante mieloperoxidasa positivo.
g) granulocito hiposegmentado y desgranulado.

Valoración cualitativa de la displasia de la granulopoyesis (2)

B) Anomalías de menor consideración patológica que las enumeradas en A:

- Hipersegmentación nuclear
- Apéndices nucleares
- Cuerpos de Döhle

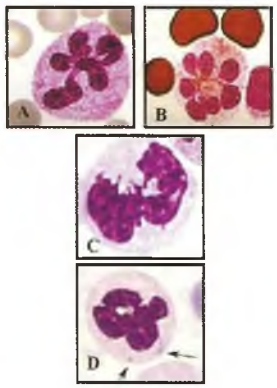
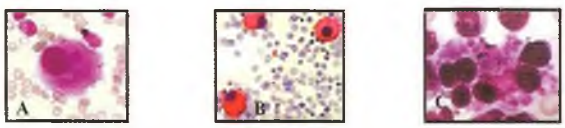


Figura 12.3.
a) granulocito hipersegmentado de gran tamaño.
b) granulocito con signos de mielocatexis.
c) granulocito con abundantes apéndices nucleares.
d) granulocito desgranulado con cuerpos de Döhle (*flechas*).

Valoración cualitativa de la megacariopoyesis

A) Anomalías indicativas de trastorno profundo de la megacariopoyesis
- Micromegacariocitos hipolobulados de citoplasma maduro que suelen agruparse.
- Megacariocitos monolobulados de tamaños varios.



B) Anomalías de menor consideración patológica
- Megacariocitos con asincronismo madurativo núcleo-citoplasma.
- Megacariocitos con lóbulos nucleares dispersos.

Figura 12.4.
a) megacariocito hipolobulado.
b) varios megacariocitos de núcleo único, CD61 positivos.
c) acúmulo de micromegacariocitos.
d) megacariocito con asincronismo madurativo núcleo/citoplasmático.
e) megacariocito con lóbulos nucleares no conexionados.

observación frecuente y no exclusiva de los síndromes mielodisplásicos. Asimismo, pueden advertirse habitualmente las formas gigantes hipersegmentadas. El hallazgo de micromegacariocitos, es decir, de megacariocitos de tamaño pequeño, a veces no superior al de un linfocito (ploidía baja), con un citoplasma que ha alcanzado su máximo grado de maduración, es de extrema importancia, y su mera presencia permite asegurar (excepto en recién nacidos) la existencia de una mielopatía. Ante tal signo dismórfico conviene prestar especial atención al estudio del cromosoma 3q26. Una incidencia del 10% o más de núcleos desnudos sobre el total de la serie megacariocítica suele asociarse a un aumento del depósito de reticulina en la médula ósea.

La emperipolesis o internalización de elementos formes de la sangre es muy frecuente, y su presencia se ha relacionado con una demanda plaquetar aumentada. Las plaquetas, a pesar de su diminuto tamaño, también merecen una consideración morfológica. Las mayores alteraciones trombocíticas se observan en la leucemia mielomonocítica crónica y en la metaplasia mieloide agnogénica. Las plaquetas desgranuladas (azules o grises) tienen el mismo significado que los granulocitos desgranulados. En ocasiones, sus gránulos y demás organelas se acumulan en el centro plaquetario, de modo que confieren a estos elementos formes de la sangre un aspecto nucleado. Menor peso valorativo tienen las vacuolas, y mucho menos las prolongaciones seudopódicas, que pueden representar una simple situación de activación plaquetaria. Las formas grandes se interpretan como plaquetas jóvenes, siendo sólo valorables las formas gigantes, que pueden adquirir el diámetro de un hematíe (anomalía adquirida de Bernard-Soulier). La valoración citoquímica de la dismegacariopoyesis no proporciona datos de interés.

Hay que indicar, finalmente, el concepto de la cuantificación de la displasia morfológica, que puede así evitar erro-

res de sobrevaloración. Cualquier anomalía que no afecte al 3% de los elementos de la línea celular en estudio y hasta el 10% para la serie eritroide debe valorarse con precaución, ya que puede ser debida a la mera expresión de la denominada dishemopoyesis fisiológica. Son diversos los autores que confieren gran valor a la estimación cuantitativa de los signos dismórficos; así, la OMS exige cuantificar la dishemopoyesis para una correcta clasificación de las leucemias agudas y de los SMD[11]. También se concede significado patológico desigual a los signos dismórficos, lo cual constituye la base de algunos sistemas de puntuación que ya se han aplicado, por ejemplo, en las leucemias mieloides agudas en remisión con mielodisplasia morfológica y con diferentes índices de supervivencia, según la puntuación alcanzada[12].

El reconocimiento y la valoración ponderada de estos signos morfológicos dishemopoyéticos tienen la máxima importancia, ya que, por lo general, éstos son tanto más expresivos cuanto más importante es la mielopatía y, por otra parte, su presencia o ausencia ayuda a clasificar ciertos trastornos hemáticos, como las mielopatías primarias o secundarias a una causa extrahematológica[13].

IMPORTANCIA PRÁCTICA DEL CONCEPTO DE MIELOPATÍA PRIMARIA

La adquisición de un mayor conocimiento sobre la célula germinal y sobre el concepto de dishemopoyesis, con sus correspondientes implicaciones morfológicas y clínicas, ha abierto cauces que permiten relacionar e incluso entrelazar entidades que antes se consideraban más bien dispares, y a la vez, evaluar de una forma eficaz signos diagnósticos previamente infravalorados[14,15].

Para quienes desean obtener una visión coherente de las ramas que integran la hematología y procuran agrupar entidades y síndromes bajo nexos sólidos y lógicos, el concepto de mielopatía primaria posee un interés indudable. Son múltiples las posibilidades de desviación patológica de las células germinales y de las células que de ellas derivan, con funciones ya más concretas (tabla 12.1). Abarcan desde las insuficiencias de producción, más o menos globales o parciales, hasta la proliferación clonal de carácter abierto o veladamente neoplásico, pasando por alteraciones de orden más bien cualitativo, no declaradamente proliferativo, pero que también tienen su traducción patológica y que constituyen, a menudo, fases previas de posterior malignización.

Del concepto de dishemopoyesis, introducido decididamente en la década de 1970, apareció un conjunto de entidades con características propias, que se agrupó en el concepto más concreto de los llamados síndromes mielodisplásicos (SMD). Los SMD constituyen la esencia misma de la dishemopoyesis, entendida como expresión de muy diversas posibilidades de proyección.

El nuevo grupo cobijó entonces nosológicamente entidades que, hasta entonces, se habían ofrecido mal delimitadas o confusas. De esta manera, la antigua anemia refractaria crónica con médula ósea sideroblástica, descrita por Björkman[16] ya en 1956, se integró entre los SMD con la denominación equivalente de anemia refractaria sideroblástica adquirida. Asimismo, ciertos estados preleucémicos que se incluían hasta entonces en la denominación de preleucemias[17] se consideraron equivalentes a la anemia refractaria con mieloblastosis parcial, descrita por Dreyfus[18] en 1970 y que el grupo cooperativo FAB denominó después, en 1976, anemia refractaria con exceso de blastos[19]. La ambigua leucemia mielomonocítica crónica, tan bien delimitada por Miescher y Farquet[20] en 1974, también se ha incorporado al grupo de los SMD por su exuberancia de signos morfológicos dishemopoyéticos. Recientemente, la OMS[11] la engloba entre un grupo de entidades que presentan características compartidas con los síndromes mielodisplásicos y con los síndromes mieloproliferativos. De esta forma, el conjunto de las llamadas por Dreyfus anemias refractarias adquiridas, constituyó, junto con la leucemia mielomonocítica crónica y la variedad anemia refractaria con exceso de blastos en transformación, identificadas más adelante por el FAB[21], lo que serían y son actualmente los síndromes mielodisplásicos adquiridos. La gran aportación del reconocimiento de la dishemopoyesis fue lo que permitió identificar tales procesos y reunirlos para facilitar su comprensión, estudio y diagnóstico. Ya en 1951, Dameshek[22], dotado de una extraordinaria visión clínica, había sabido también agrupar la policitemia vera, la metaplasia mieloide agnogénica, la trombocitemia esencial y la leucemia mieloide crónica en el también útil concepto de los síndromes mieloproliferativos crónicos (SMPC). La identificación de estos dos grandes grupos sindrómicos, el de los SMD y el de los SMPC, posee un indudable interés nosológico y práctico. Se trata en ambos casos de situaciones patológicas que derivan del comportamiento anómalo de la célula germinal, que si bien suele derivar en una de las diversas entidades que los integran, también puede dar lugar a diversos cuadros frontera que no cabe encasillar en ninguna de estas entidades concretas y que, al fin y al cabo, obedecen al intento humano de delimitar los caminos a menudo anárquicos de la biología.

Finalmente, el síndrome de Marchiafava-Micheli o hemoglobinuria paroxística nocturna[23] es un indudable exponente del concepto unitario de mielopatía. Se trata, en efecto, de una entidad mielopática por excelencia, que puede acompañar al cuadro clínico de aplasia medular, al de una leucemia aguda mieloide o al más frecuente de una anemia hemolítica adquirida; en este último caso, porque sus hematíes maltrechos por la degeneración mielopática sobreviven menos que los normales. Se trata de un auténtico proceso pluriexpresivo de la diversidad de las mielopatías primarias, al manifestarse desde su ámbito más deficitario, como es el de la aplasia medular, hasta el más proliferativo, como es la leucemia mieloide aguda.

BIBLIOGRAFÍA

1. Weissman IL. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. Cell 2000; 100:157-168.
2. Gallagher A, Darley RL, Padua R. The molecular basis of myelodysplastic syndromes. Haematologica 1997; 82:191-204.
3. Rossi D, Gaidano G. Messengers of cell death: apoptotic signaling in health and disease. Haematologica 2003; 88:212-218.
4. Staudt LM. Molecular diagnosis of the hematologic cancers. N Engl J Med 2003; 348:1777-1785.
5. Allsopp RC, Morin GB, De Pinho R, Harley CB, Weissman IL. Telomerax is required to slow telomere shortening and extend replicative lifespan of HSCs during renal transplantation. Blood 2003; 102:517-520.
6. Lewis SM, Verwilghen RL. Dyserythropoiesis and dyserythropoietic anaemia. Br J Haematol 1972; 23:1-3.
7. Rozman C, Woessner S, Feliu E, Lafuente R, Berga L. Cell ultrastructure for hematologists. Barcelona: Doyma, 1993.

CAPÍTULO 13

Síndromes mielodisplásicos. Síndromes mielodisplásicos/síndromes mieloproliferativos. Anemias diseritropoyéticas congénitas. Tratamiento de los síndromes mielodisplásicos

J. Sans-Sabrafen, S. Woessner y C. Besses

ÍNDICE

Concepto, nosología y antecedentes históricos
Criterios definitorios
Clasificación
Diagnóstico multimetodológico
- Reacciones citohistoquímicas. Estudios inmunocitohistoquímicos
- Biopsia medular
- Citogenética. Estudios moleculares
- Cultivos celulares *in vitro*

Descripción clinicobiológica de las diferentes variedades de SMD según criterios de la OMS
Anemia refractaria
Anemia refractaria sideroblástica
Citopenia refractaria con displasia multilínea
Anemia refractaria con exceso de blastos
Síndromes mielodisplásicos no clasificables
SMD con del(5q) como única anomalía
Formas especiales de SMD
Síndrome mielodisplásico hipocelular
Síndrome mielodisplásico hiperfibrótico
Anemia refractaria con displasia nuclear y PAS positividad eritroblástica
SMD con determinadas características citogenéticas
- Deleción 17p
- SMD con alteraciones estructurales del cromosoma 3
- Deleción 20q–

SMD pediátricos
SMD relacionados con la terapéutica
Diagnóstico
Evolución y pronóstico
Síndromes mielodisplásicos/síndromes mieloproliferativos crónicos (SMD/SMP)
- Leucemia mielomonocítica crónica
- Leucemia mieloide crónica atípica
- Leucemia mielomonocítica juvenil
- SMD/SMP no clasificables

Anemias diseritropoyéticas congénitas
- Clasificación morfológica
- Manifestaciones clínicas
- Diagnóstico y diagnóstico diferencial
- Tratamiento
- Evolución y pronóstico

Tratamiento de los SMD
- Consideraciones generales
- Tratamiento de soporte
- Tratamiento no intensivo
- Tratamiento intensivo

Bibliografía

CONCEPTO, NOSOLOGÍA Y ANTECEDENTES HISTÓRICOS

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son proliferaciones clonales de células germinales medulares multipotentes que, si bien retienen la capacidad para diferenciarse hasta estadios maduros, lo hacen de forma defectuosa e ineficaz, de manera que las células resultantes son deficitarias en número, función y morfología. A medida que, con el tiempo, va perdiéndose progresivamente su capacidad diferenciadora, emerge una clara tendencia hacia la transformación leucémica, si bien, antes de que ello ocurra, los pacientes fallecen, a menudo, como consecuencia de las complicaciones derivadas del agravamiento de las citopenias, que constituyen, en realidad, su más llamativa expresión. En el Capítulo 12 ya se ha aludido a la importancia de la apoptosis en la génesis de estas citopenias.

La lesión de la célula germinal medular multipotente da lugar a alteraciones morfológicas, que sólo se manifiestan en una parte de los elementos formes representativos de cada serie, mientras que se conservan los rasgos típicos normales de los elementos restantes. Se produce, así, el fenómeno de la doble población, que se traduce en la serie roja por la presencia simultánea de elementos hipercromos representativos de la eritrona enferma y otros normocromos, hallazgo habitual en la anemia refractaria sideroblástica (ARS), que atestiguan la relativa indemnidad de la eritrona restante. También en la serie granulocitaria, y más concretamente en las variedades que cursan con lesión granulopoyética, está presente esta doble población, representada fundamentalmente por la coexistencia de neutrófilos segmentados, desprovistos de gránulos, con otros dotados de una granulación normal. En la serie plaquetaria alternan, asimismo, las plaquetas normales con otras con anomalías morfológicas varias. Además, los frágiles elementos formes resultantes no alcanzan, a menudo, la plenitud madurativa y fallecen por incremento de la apoptosis en la médula (aborto intramedular), lo que en el caso concreto de la serie roja se traduce en el llamado fenómeno de la eritropoyesis ineficaz, y en la periferia, en forma de hemólisis precoz.

Los SMD, inicialmente definidos por el Grupo Franco-Americo-Británico (FAB)[1], comprenden un conjunto de trastornos que se presenta habitualmente en edades superiores a los 50 años y que se caracterizan, fundamentalmente, por cursar con alteraciones morfológicas dishemopoyéticas no sintomáticas de otras enfermedades de etiología conocida. Estas alteraciones morfológicas dishemopoyéticas son el rasgo definitorio fundamental de los SMD. Se trata de una patología reconocida especialmente a partir de la década de 1970 al evidenciarse el valor patológico de determinadas anomalías morfológicas cualitativas que, en una visión previa, más cuantitativa, de las anomalías globulares, habían sido infravaloradas o incluso habían pasado inadvertidas[2,3]. Integran fundamentalmente las antes denominadas anemias refractarias adquiridas. Una de ellas, la llamada anemia refractaria sideroblástica, ya había sido descrita en 1956[4], al valorar Björkman que un rasgo morfológico concreto, como es el hallazgo de una sideroblastosis anillada medular, en pacientes con anemia previamente no filiada, confiere personalidad clinicoevolutiva a sus portadores. Esta anemia refractaria sideroblástica se mantuvo nosológicamente como entidad singular hasta que Dreyfus[5] describió en 1970 la llamada anemia refractaria con mieloblastosis parcial, que el FAB denominaría, posteriormente, anemia refractaria con exceso de blastos. El mismo grupo FAB[6] decidió, a partir de la valoración de ciertas similitudes morfológicas, integrar también en el grupo, de forma un tanto discutible, la leucemia mielomonocítica crónica, y describió la anemia refractaria simple como entidad que, sin reunir los criterios definitorios de las demás, cursaba también, al igual que ellas, con citopenias varias y anomalías morfológicas dishemopoyéticas, a veces mínimas, como únicos rasgos hematológicos.

El calificativo de *preleucemia*, acuñado principalmente por Saarni y Linman[7] en 1973 para designar también las anemias refractarias adquiridas, ha ido cayendo en desuso, no sólo porque únicamente alrededor de una tercera parte de estos procesos evoluciona hacia la leucemia aguda sino porque la denominación de *preleucemia* sobrepasa con toda claridad el capítulo de las anemias refractarias propiamente dichas, pues también son potencialmente preleucémicas algunas aplasias medulares, los síndromes mieloproliferativos crónicos, y otras patologías que se producen en individuos irradiados, expuestos a la acción del benceno o tratados con alquilantes, así como trastornos congénitos (neurofibromatosis tipo I, síndrome de Wiskott-Aldrich, entre otros). No obstante, sobre los SMD se cierne más a menudo que sobre otros procesos la amenaza de una futura evolución leucémica. El vocablo preleucemia puede incluirse mejor en el concepto global de mielopatía que en el de los SMD, los cuales no abarcan todas las posibilidades de evolución leucémica como para atribuírseles también tal denominación. Saarni y Linman[7] siguieron, además, una vía ciertamente inversa en su descripción, al encontrar, en algunos pacientes con leucemia aguda, rasgos dishemopoyéticos en extensiones efectuadas previamente al desarrollo de la leucemia. Estos rasgos fueron juzgados entonces como necesariamente preleucémicos.

Además de los SMD primarios, existen los llamados SMD secundarios[8], que se presentan como consecuencia de la acción mielonociva de la quimioterapia, fundamentalmente de los fármacos alquilantes, con o sin irradiación acompañante. Estos SMD secundarios no sólo difieren de los primarios por la existencia del antecedente citotóxico sino también porque suelen cursar más a menudo con cariotipos complejos y evolucionar también, con mayor frecuencia, hacia la leucemia aguda, con un período de latencia que varía en relación al fármaco empleado.

A la lesión genética inicial de la hematopoyesis clonal se le van sumando otras anomalías genéticas o agresiones provocadas por tóxicos o mutágenos ambientales que, por mecanismos varios (activación de oncogenes, inactivación de genes supresores de tumores, defectos en la reparación del DNA, mutaciones de varios oncogenes como RAS y FMS, aumentada expresión del gen *WT1*, metilación de *p15*, entre otras anomalías), conducen a un curso más agresivo del SMD. El equilibrio entre genes que favorecen la apoptosis, como el *p53* y los que la interfieren, como el *bcl-2*, y mutaciones de los genes mitocondriales citocromo C oxidasa I y II, determinan que se manifieste un cuadro más o menos agresivo.

CRITERIOS DEFINITORIOS

El SMD debe sospecharse siempre que un paciente adulto, habitualmente de más de 50 años, presente una anomalía en la sangre periférica que, siendo persistente o de un mínimo de 6 meses de evolución, no tenga una clara explicación clínica. La anomalía puede consistir en una simple, pero llamativa, macrocitosis, en una mono, bi o pancitopenia, acompañadas de alguna alteración morfológica de una o más series. La dishemopoyesis, para que pueda ser valorable, debe encontrarse en, por lo menos, el 10% de células de cada línea, sobre un recuento amplio. Su diagnóstico exige descartar, mediante estudio intencionado de la sangre periférica, de la médula[9] y de otros exámenes, la existencia de otras hemopatías justificativas de estas anomalías, además de cualquier otro proceso o circunstancia extrahematológica, como una hepatopatía, nefropatía, déficit nutricional, carencia de vitamina B_{12}, ácido fólico o hierro, alcoholismo, intoxicación por metales pesados, arsénico, tratamiento citostático, infecciones víricas (VIH, parvovirus, herpesvirus, etc.) o tratamiento con factores de crecimiento hematopoyético, entre otros.

Los SMD idiopáticos poseen en común las siguientes características generales:

1. Suelen incidir en pacientes de edad generalmente superior a los 50 años (edad mediana de 70 años, en la mayoría de series), con ligero predominio en los varones. No obstante, cada vez es más frecuente el diagnóstico de SMD en personas más jóvenes e incluso en niños.
2. Cursan con citopenias de grado variable que abarcan una, dos o las tres series hematopoyéticas medulares. Suele hallarse macrocitosis y cierto grado de anemia, no necesariamente presente. En la ARS existe anisocromía, que define la presencia de una doble población de hematíes.
3. Constante presencia, en mayor o menor grado, de signos morfológicos dishemopoyéticos que, de hecho, son los que definen y confieren personalidad a cada una de sus variedades. Los signos más distintivos son: *a*) sideroblastosis anillada; *b*) presencia de blastos de tipo I o II; *c*) presencia de micromegacariocitos o de megacariocitos con múltiples núcleos unilobulados; *d*) neutrófilos hipogranulares o agranulares con o sin hiposegmentación nuclear, y *e*) otras anomalías dishemopoyéticas.
   Entre los signos dishemopoyéticos cabe mencionar especialmente, por su valor diagnóstico, la sideroblastosis anillada y la blastosis no linfoide.

Sideroblastosis anillada. En una médula ósea normal, teñida mediante la coloración de Perls, se observa el 30-50% de sideroblastos que contienen de 1-4 gránulos de hemosiderina. En la ARS aumenta de forma considerable el número de sideroblastos, muchos de los cuales poseen más de 6 gránulos de hemosiderina en el citoplasma (sideroblastos tipo III o intermedios). Asimismo, se observa una proporción igual o superior al 15% de sideroblastos calificados como anillados, por tener gránulos de hemosiderina que abarcan un tercio o más de la circunferencia nuclear. Ultraestructuralmente, se comprueba que el depósito de hierro se efectúa entre las crestas mitocondriales, fenómeno que diferencia los sideroblastos anillados de los restantes sideroblastos. La sideroblastosis anillada puede observarse en todas las demás variedades de SMD, si bien en proporción inferior a la hallada en la ARS genuina.

Blastos tipo I y II. Para la clasificación en una variedad concreta de SMD, es fundamental precisar el porcentaje de blastos en la médula ósea. El FAB[1,6] distingue dos tipos de blastos: *tipo I*, agranulares, en tinción de May-Grünwald-Giemsa, y *tipo II*, con gránulos azurófilos o primarios escasos (fig. 13.1). La principal dificultad estriba en distinguir este último tipo de blastos de los promielocitos que presenten muy escasa granulación debido a la hipogranularidad general que también les afecta; esta circunstancia, por su subjetividad, puede determinar que el diagnóstico de la variedad de SMD sea distinta según los diversos observadores, con el consiguiente cambio en la incidencia de las diversas variedades de SMD según las series. El mayor tamaño del promielocito, su excentricidad nuclear y la presencia de una zona de aclaramiento perinuclear en forma de semiluna, ayudan a establecer esta diferencia.

4. La celularidad cuantitativa de la médula ósea suele estar aumentada o normal. Pocas veces es pobre, y plantea entonces el diagnóstico diferencial, sobre todo con la aplasia medular.
5. En la ARS se observa habitualmente un patrón ferrocinético de eritropoyesis ineficaz, con aborto intramedular o hemólisis precoz.
6. El 30-50% de pacientes con SMD primario presentan anomalías cromosómicas mediante citogenética convencional, proporción que aumenta si se aplican técnicas de hibridación *in situ* fluorescente.
7. Las variedades con exceso de blastos y leucemia mielomonocítica crónica cursan también con cultivos *in vitro* de las células formadoras de colonias granulomonocíticas (CFC-GM) anómalas, con patrones que suelen evolucionar de forma coherente con la transformación leucémica.
8. Suele existir una evidente resistencia a todas las medidas terapéuticas, y la muerte se produce más a menudo por las consecuencias infecciosas y hemorrágicas de la granulocitopenia y trombocitopenia que por la evolución a leucemia aguda, que se produce en alrededor de un tercio de los pacientes.
9. Los SMD se asocian en el 5% de los casos con síndromes mieloproliferativos, en el 7,5%, a síndromes linfoproliferativos, y en el 13%, a carcinoma sólido[10]. Se debate el significado de esta asociación y el posible carácter paraneoplásico de algunos casos de SMD.

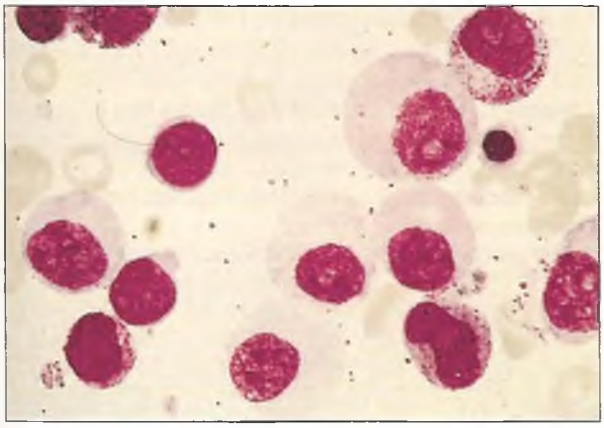


Figura 13.1. Blastos agranulares (tipo I) y granulares (tipo II) junto con promielocitos desgranulados de aspecto espumoso (May-Grünwald-Giemsa ×1.000).

CLASIFICACIÓN

Existen, básicamente, dos clasificaciones de los SMD, FAB (1982)[1] y OMS (2001)[11], cuyo objetivo principal es individualizar subtipos clinicopatológicos de pronóstico y conducta terapéutica distintos.

La clasificación del grupo FAB[1], elaborada en 1982 mediante criterios morfológicos de fácil obtención y reproducibilidad, ha tenido el gran mérito de permitir a los hematólogos unificar su lenguaje y englobar bajo el término de SMD las distintas denominaciones previamente citadas, y separarlas claramente de las leucemias agudas mieloblásticas, para cuyo diagnóstico el grupo FAB requiere el 30% o más de células blásticas. En la clasificación FAB se distinguen cinco variedades (tabla 13.1): anemia refractaria simple (AR), ane-

TABLA 13.1

Criterios definitorios de los síndromes mielodisplásicos según el grupo FAB

Anemia refractaria simple (AR)	Anemia inexplicada persistente con dishemopoyesis
Anemia refractaria sideroblástica (ARS)	AR con más del 15% de sideroblastos anillados
Anemia refractaria con exceso de blastos (AREB)	AR o ARS con 5-20% de blastos en médula ósea y menos del 5% de blastos en sangre periférica
Anemia refractaria con exceso de blastos en transformación (AREBT)	20-30% de blastos en médula ósea o más del 5% de blastos en sangre periférica. Presencia de algunos bastones de Auer
Leucemia mielomonocítica crónica (LMMC)	Médula ósea como en AREB, con monocitosis periférica superior a 1×10^9/L

Según el Grupo Cooperativo Franco-Americano-Británico (FAB), 1982.

mia refractaria sideroblástica (ARS), anemia refractaria con exceso de blastos (AREB), anemia refractaria con exceso de blastos en transformación (AREBT) y leucemia mielomonocítica crónica (LMMC). Los criterios empleados en esta clasificación son el porcentaje de blastos en médula ósea y sangre periférica (tabla 13.2), el número absoluto de monocitos, la presencia de bastones de Auer y la proporción de sideroblastos anillados, todo ello junto a rasgos morfológicos dishemopoyéticos de grado variable.

TABLA 13.2

Valor de la cuantificación de los blastos según el grupo FAB (1982)

Anemia refractaria simple o anemia refractaria sideroblástica (AR o ARS)
< 1% de blastos en sangre periférica
< 5% de blastos en médula ósea
Anemia refractaria con exceso de blastos (AREB)
< 5% de blastos en sangre periférica
5-20% de blastos en médula ósea
Anemia refractaria con exceso de blastos en transformación (AREBT)
> 5% de blastos en sangre periférica
20-30% de blastos en médula ósea
Bastones de Auer
Leucemia aguda
> 30% de blastos en médula ósea

La ARS se define por la presencia del 15% o más de sideroblastos anillados en la médula ósea, en ausencia de otros criterios que permitan incluir al paciente en otra variedad de SMD (AREB, AREBT o LMMC).

La AREB, denominada por Dreyfus et al[5] *anemia refractaria con mieloblastosis parcial*, se caracteriza por la presencia de un porcentaje de blastos en médula ósea del 5-20%, con menos del 5% de blastos en sangre periférica.

La AREBT se define por la presencia del 20-30% de blastos en médula ósea o de más del 5% en sangre periférica, o por la presencia inequívoca de bastones de Auer en los precursores granulocíticos.

La LMMC se caracteriza por la existencia de una monocitosis en sangre periférica superior a 1×10^9/L, y suele cursar con una morfología similar a la de la AREB, con presencia, más o menos llamativa, de promonocitos más o menos atípicos. La blastosis periférica es inferior al 5%.

La AR constituye, en realidad, un cajón de sastre, y se define por la presencia de signos morfológicos dishemopoyéticos en ausencia de sideroblastosis y monocitosis significativas, y con un porcentaje de blastos en médula ósea siempre inferior al 5%. La incidencia de los distintos tipos de SMD varía ampliamente según las series, lo cual se debe, en parte, a la dificultad de aplicar los criterios del grupo FAB y, en particular, a la identificación de los blastos, ya que pueden considerarse como tales promielocitos más o menos atípicos. Ello condiciona que un paciente determinado pueda ser diagnosticado de AR por algún observador, y de AREB por otros.

Un comité de expertos de la OMS[11] ha elaborado una nueva clasificación, con características y subtipos que se exponen a continuación, una de cuyas principales innovaciones es la de rebajar el porcentaje de células blásticas en médula ósea o sangre periférica del 30 al 20% para considerar el diagnóstico de leucemia aguda. Tal innovación difuminaría aún más los límites entre SMD y leucemia aguda.

Las distintas variedades de SMD según la OMS se describen en la (tabla 13.3), y a continuación se especifican sus principales datos hematológicos.

1. **Anemia refractaria.** En sangre periférica, se caracteriza por anemia en ausencia o presencia mínima de células blásticas, acompañada en médula ósea por displasia selectiva de la serie eritroide, con menos del 5% de blastos y del 15% de sideroblastos en anillo.
2. **Anemia refractaria con sideroblastos en anillo.** En sangre periférica se registra anemia en ausencia de blastos, y en médula ósea se observa displasia aislada de la serie eritroide con menos del 5% de blastos y un mínimo del 15% de sideroblastos en anillo, como dato distintivo y característico.
3. **Citopenia refractaria con displasia multilínea.** Se observan citopenias (bi o pancitopenia) sin blastos o una mínima expresión de los mismos, ausencia de bastones de Auer y menos de 1×10^9/L de monocitos. Los hallazgos medulares se resumen en un mínimo de un 10% de células displásicas en dos o más líneas mieloides con menos de un 5% de blastos, menos de un 15% de sideroblastos anillados y ausencia de bastones de Auer.
4. **Citopenia refractaria con displasia multilínea y sideroblastos en anillo.** La única diferencia con la variedad anterior estriba en la presencia del 15% o más de sideroblastos en anillo.
5. **Anemia refractaria con exceso de blastos tipo I.** En sangre se registran citopenias, menos del 5% de blastos, ausencia de bastones de Auer y menos de 1×10^9/L de monocitos. En médula ósea se constata displasia uni o multilínea, de 5 a 9% de blastos y ausencia de bastones de Auer.
6. **Anemia refractaria con exceso de blastos tipo II.** La diferencia con respecto a la variedad anterior se resume en un incremento del número de blastos en sangre (de 5 a 19%) y en médula (de 10 a 19%), con eventual presencia de bastones de Auer.
7. **SMD asociado a del(5q)** como única anomalía citogenética[12]. En la sangre existe anemia con una cifra normal o incrementada de plaquetas y menos del 5% de blastos. En médula ósea destaca una megacariopoyesis normal o aumentada con una dismorfia prominente referida a megacariocitos uni o bilobulados. El número de blastos es inferior al 5%, sin bastones de Auer, y por citogenética se evidencia la anomalía en el cromosoma 5.
8. **SMD no clasificado.** Expresa las limitaciones de toda clasificación. Se trata de una citopenia aislada (granulocitopenia o trombocitopenia) sin o con escasos blastos y sin bastones de Auer; iguales características se refieren a la médula ósea, y la displasia afecta a la serie granulopoyética o megacariocítica.

A continuación, se detallan las principales aportaciones de la clasificación de la OMS en relación a la clasificación FAB. Se suprime la variedad de anemia refractaria con exceso de blastos en transformación, que pasa a considerarse una leucemia aguda. Se exige dismorfia unilínea de la serie eritroblástica en la anemia refractaria y en la anemia refractaria sideroblástica. Se estratifica la anemia refractaria con exceso de blastos en dos categorías (tipo I y II), se adscribe la leucemia mielomonocítica crónica al grupo mixto de SMD/SMP que se describirá posteriormente, se individualiza el síndrome 5q– como una nueva

TABLA 13.3

Criterios definitorios de los SMD según la OMS

Entidad patológica	Hallazgos sanguíneos	Hallazgos medulares
Anemia refractaria	Anemia Ausencia o escasez de blastos	Displasia eritroide aislada < 5% de blastos < 15% de sideroblastos en anillo
Anemia refractaria con sideroblastos en anillo	Anemia Ausencia de blastos	≥ 15% de sideroblastos en anillo Displasia eritroide aislada < 5% de blastos
Citopenia refractaria con displasia multilínea	Bi o pancitopenia Ausencia o escasez de blastos Ausencia de bastones de Auer < 1×10^9/L monocitos	Displasia en ≥ 10% de las células de dos o más líneas mieloides < 5% de blastos Ausencia de bastones de Auer < 15% de sideroblastos en anillo
Citopenia refractaria con displasia multilínea y sideroblastos en anillo	Bi o pancitopenia Ausencia o escasez de blastos Ausencia de bastones de Auer < 1×10^9/L monocitos	Displasia en ≥ 10% de las células de dos o más líneas mieloides ≥ 15% de sideroblastos en anillo < 5% de blastos Ausencia de bastones de Auer
Anemia refractaria con exceso de blastos-1(AREB-1)	Citopenias < 5% de blastos Ausencia de bastones de Auer < 1×10^9/L monocitos	Displasia unilínea o multilínea 5-9% de blastos Ausencia de bastones de Auer
Anemia refractaria con exceso de blastos-2 (AREB-2)	Citopenias 5-19% de blastos Bastones de Auer esporádicos < 1×10^9/L monocitos	Displasia unilínea o multilínea 10-19% de blastos Bastones de Auer esporádicos
Síndrome mielodisplásico asociado con del(5q) como única anomalía citogenética	Anemia Recuento de plaquetas normal o aumentado < 5% de blastos	Megacariocitos normales o aumentados, con núcleo hipolobulado < 5% de blastos Ausencia de bastones de Auer del(5q) aislada
Síndrome mielodisplásico no clasificable (actualmente)	Citopenias Ausencia o escasez de blastos Ausencia de bastones de Auer	Displasia afectando una sola línea < 5% de blastos Ausencia de bastones de Auer

variedad de SMD, y se reconocen como SMD inclasificables las neutropenias o trombocitopenias displásicas aisladas.

El comité de la OMS recomienda encarecidamente realizar estudios citogenéticos y/o moleculares en los SMD, ya que SMD que presenten anomalías citogenéticas propias de leucemias mieloides agudas como t(8;21), inv(16), t(15;17) o anomalías en 11q23, independientemente del porcentaje de blastos medulares, pasan a ser considerados como leucemias mieloides agudas.

En la actualidad, y después de todo lo expuesto, parece razonable utilizar simultáneamente las clasificaciones del FAB y de la OMS en el estudio de los síndromes mielodisplásicos, a la espera de una nueva clasificación más biológica, basada en el mejor conocimiento de las vías que controlan la proliferación, la maduración y la supervivencia de las células germinales hematopoyéticas.

DIAGNÓSTICO MULTIMETODOLÓGICO

El diagnóstico de un SMD requiere la integración de múltiples parámetros que incluyen, aparte de los datos clinicocitológicos, información inmunocitoquímica, citogenética molecular y, en ocasiones, cultivos celulares y biopsia medular, ya que ningún dato por sí solo es patognomónico de SMD.

Reacciones citohistoquímicas. Estudios inmunocitohistoquímicos

Son reacciones en ocasiones imprescindibles para el diagnóstico, especialmente la tinción del hierro con el azul de Prusia para la detección de los sideroblastos patológicos, especialmente de las formas en anillo y las reacciones de la mieloperoxidasa y de las esterasas inespecíficas, para asegurar la filiación mieloide de las células blásticas y más certera identificación de los bastones de Auer.

En relación con las reacciones inmunohistoquímicas, tiene especial relevancia la detección del antígeno CD61, excelente marcador de la serie megacariocítica, que muestra en los SMD una gran variabilidad en su tamaño y forma. La detección del antígeno CD34 permite una más precisa visualización de los agregados de células CD34 positivas, lo que se relaciona con la evolución a leucemia aguda y permite, asimismo, una nítida detección de las estructuras vasculares.

Biopsia medular

La biopsia medular proporciona información útil en cuanto a la celularidad global, a la topografía alterada de las distintas series hematopoyéticas en comparación con el patrón de nor-

malidad (desplazamiento de la granulopoyesis del área paratrabecular y perivascular a posiciones más centrales, o de la megacariopoyesis hacia áreas próximas a las trabéculas óseas), así como de la cuantía y, sobre todo, de la distribución de las células blásticas en el parénquima medular. La biopsia medular es especialmente importante para advertir la disposición de las células blásticas, que tienden a agruparse en cinco o más elementos constituyendo los ALIPS (*abnormal localization immature precursors*), que son agrupaciones de mieloblastos y/o de promielocitos localizados en un área central de la médula ósea. La presencia de tres o más de estos focos en una sección medular se considera ALIP-positiva, siempre que cumplan el requisito de ser mieloperoxidasa positivos para diferenciarlos de agrupaciones de elementos eritroides o megacariocíticos (seudo ALIPS), que no poseen especial significado patológico. La evaluación de fibroblastos, adipocitos, células endoteliales y estructuras vasculares ayuda al mejor conocimiento de los síndromes mielodisplásicos. La presencia de fibrosis reticulínica, generalmente focal pero a veces difusa o de tipo colágena, de agregados linfoides presentes en hasta el 10% de los SMD, o la proliferación de elementos vasculares (neoangiogénesis) detectados mediante lectinas (Ulex) o con anti-CD34 también permiten ser evaluados en los cortes histológicos, y se les ha atribuido significado pronóstico.

Citogenética. Estudios moleculares

La determinación del cariotipo en los SMD ha adquirido un progresivo valor diagnóstico[13,14]. La observación de determinadas alteraciones permite incluso asegurar el diagnóstico de estos síndromes en pacientes con anomalías morfológicas no suficientemente expresivas. Asimismo, la detección de diversas anomalías cromosómicas posee un indudable significado pronóstico, tanto en relación a la supervivencia como al riesgo de transformación leucémica. Su incidencia varía según se trate de SMD primarios, en cuyo caso se presentan en el 30-50% de pacientes, o secundarios a la acción de diversos agentes citotóxicos, en cuyo caso aparecen en casi el 90% de pacientes. El conocimiento de todas estas alteraciones se ha enriquecido con el desarrollo de las técnicas de hibridación *in situ*, que permiten identificarlas también en células en interfase. Entre las aberraciones clonales predominan las deleciones no balanceadas. Son frecuentes deleciones parciales o totales de los cromosomas 5 y 7, del(20q) o anomalías del cromosoma 3. Con todo, existen cambios cromosómicos que, sin ser exclusivos de los SMD, son muy característicos y configuran unos datos clinicoanalíticos especiales, como el síndrome 5q– como paradigma. Los SMD de alto grado de malignidad, así como los secundarios a terapéuticas mielodepresoras, presentan una mayor incidencia de cariotipos complejos que los SMD de bajo grado de malignidad. El significado pronóstico del cariotipo en los SMD está bien establecido, y se consideran tres categorías de riesgo: favorable (cariotipo normal, del 5q, del 20q y –Y), desfavorable (–7, del 7q y cariotipos complejos), y todas las otras anomalías se consideran de riesgo intermedio en relación a la supervivencia y evolución a leucemia aguda.

Las anomalías aisladas más frecuentes en los SMD primarios son la deleción del brazo largo del cromosoma 5 (5q–) observable en el 27% de casos, la trisomía 8 (+8) en el 19%, y la monosomía 7 (–7) en el 15%[14]. La deleción del brazo largo del cromosoma 5 se halla en el 10-15% de los SMD secundarios. Tal deleción (5q–), si se presenta como única anomalía, confiere un favorable pronóstico, y se asocia a menudo con anemia, que requiere soporte transfusional. Los puntos de rotura varían notablemente en cada caso, pero la mayoría de autores coinciden en que la región crítica de la deleción se sitúa entre 5q31 y 5q33[15]. En la tabla 13.4 se muestra la frecuente correspondencia entre signo morfológico mielodisplásico y anomalía cromosómica.

TABLA 13.4

Correspondencias entre signos mielodisplásicos y anomalías citogenéticas

• Megacariocitos mono/bilobulados:	síndrome 5q–
• Micromegacariocitos (acúmulos):	–7/7q–
• Displasia megacariocítica:	3q26
• Sideroblastos en anillo:	del(11q)
• Sideroblastos patológicos (tipos 3 y 4):	idic(X)(q13)
• Diseritropoyesis intensa:	del(20q)
• Hipolobulación tipo Pelger, vacuolas:	17p
• Condensación cromatínica anómala:	12p–,+8

Los pacientes con SMD primario que presentan anomalías cromosómicas complejas (lo cual se da en alrededor de una cuarta parte de ellos) muestran una supervivencia media de sólo 3 meses. Asimismo, parece que la evolución leucémica es, también en ellos, más frecuente. La adquisición de anomalías cariotípicas o la adición de otras nuevas también posee un mal significado pronóstico[16].

En los SMD secundarios, como ya se ha indicado, no suelen observarse anomalías cariotípicas aisladas sino que se asocian varias de ellas, y afectan sobre todo a los cromosomas 5, 7, 8 y 12. La evolución leucémica de estos SMD secundarios cursa con cariotipos complejos que incluyen monosomía o deleción de los cromosomas 5 y 7. El hallazgo de nuevas o adicionales anomalías también es de mal pronóstico.

Cultivos celulares *in vitro*

Los cultivos *in vitro* de médula ósea, especialmente de la línea granulomonocítica, han aportado cierta ayuda en el diagnóstico, pronóstico, evolución clínica y comprensión fisiopatológica de los SMD[17].

Los precursores granulomonocíticos de médula ósea pueden mostrar un comportamiento *in vitro* variable, que oscila entre el patrón de crecimiento normal y el observado con mayor frecuencia en la LANL: disminución o ausencia de colonias, acompañada de crecimiento de agregados (crecimiento leucémico). En los SMD de bajo grado predomina un crecimiento normal; por el contrario, en los de alto grado de malignidad el patrón más característico es el leucémico. En la LMMC el patrón es totalmente distinto, al observarse un extraordinario incremento del número de agregados y colonias ya en el día 10. Este comportamiento es muy diferente del de la anemia refractaria con exceso de blastos, en la que se observa un aumento de macroagregados en ausencia de colonias, y no se registra el fenómeno de la estimulación espontánea del cultivo, propio de la LMMC. En cualquier caso, una alteración progresiva del patrón de crecimiento suele advertir sobre una probable transformación leucémica.

DESCRIPCIÓN CLINICOBIOLÓGICA DE LAS DIFERENTES VARIEDADES DE SMD SEGÚN CRITERIOS DE LA OMS

Anemia refractaria

Esta variedad representa un cajón de sastre donde se incluyen los casos de anemias refractarias a todo tipo de tratamiento y que no cumplen los criterios de las restantes variedades de SMD. En realidad, no tiene evidente personalidad propia, y su diagnóstico se establece prácticamente por exclusión. Presenta displasia unilínea que afecta exclusivamente a la serie eritroblástica. Representa aproximadamente el 5-10% de todos los SMD.

Su transformación leucémica es más frecuente que en la ARS de la FAB (10-20% de casos). La supervivencia media en la AR es inferior a la de la ARS, pero claramente superior a la de la AREB, superando a menudo los 3 años.

Anemia refractaria sideroblástica

Su incidencia oscila por lo general, en la mayoría de las series, entre el 15 y el 25%, si bien algunos autores la identifican con mayor frecuencia (hasta el 35%). Gatterman et al[18] identificaron dos tipos de anemia refractaria sideroblástica (ARS). Una variedad pura, que cursa exclusivamente con diseritropoyesis (anemia refractaria con sideroblastos en anillo de la OMS) y otra, que se presenta con rasgos disgranulopoyéticos y distrombopoyéticos y que corresponde a la variedad de citopenia refractaria con displasia multilínea y sideroblastos en anillo de la clasificación de la OMS. La primera alcanza una supervivencia del 69% a los 5 años, con sólo un 1,9% de riesgo acumulado de transformación leucémica, mientras que la variedad con afectación de las tres líneas presenta una supervivencia claramente más reducida, de sólo el 19% en el mismo período, con transformación leucémica en el 48% de los pacientes. Una posible tercera variedad hoy día incluida como entidad provisional entre los SMD/SMP de la clasificación de la OMS la constituyen las formas que cursan con trombocitosis, en ocasiones, superior a 1.000×10^9/L.

La morfología eritrocitaria de la sangre periférica revela la coexistencia de hematíes normales y otros con profundas alteraciones diseritropoyéticas. La anisocromía, testimonio de la existencia de una doble población eritrocitaria, es un rasgo predominante. Existe macrocitosis, con un volumen corpuscular medio, por lo general, superior a 100 fL. Con frecuencia se detecta anisocitosis, punteado basófilo, anillos de Cabot y un moderado grado de poiquilocitosis y esquistocitosis. En el mielograma se observa un predominio de la serie eritroblástica (habitualmente superior al 50%) a expensas de elementos basófilos y policromatófilos, que le confieren un aspecto azul observados a pequeño aumento (frotis azul), con abundantes nidos eritroblásticos y formas en mitosis (fig. 13.2). Los eritroblastos con signos diseritropoyéticos suelen superar el 30% de los elementos rojos nucleados. El dato definitorio es la presencia del 15% o más de sideroblastos en anillo, definidos como eritroblastos con 10 o más gránulos sideróticos que circundan una tercera parte o más del perímetro nuclear. La presencia de eritroblastos PAS-positivos es esporádica. Conviene recordar que situaciones de ferropenia pueden enmascarar de modo transitorio la sideroblastosis anillada. La hipersideremia, que suele ser habitual, puede facilitar el desarrollo de hemosiderosis, con posible presentación de insuficiencia cardíaca. No se observa esplenomegalia ni adenopatías, y suele desarrollarse hepatomegalia en el curso de los años, debido a hemosiderosis.

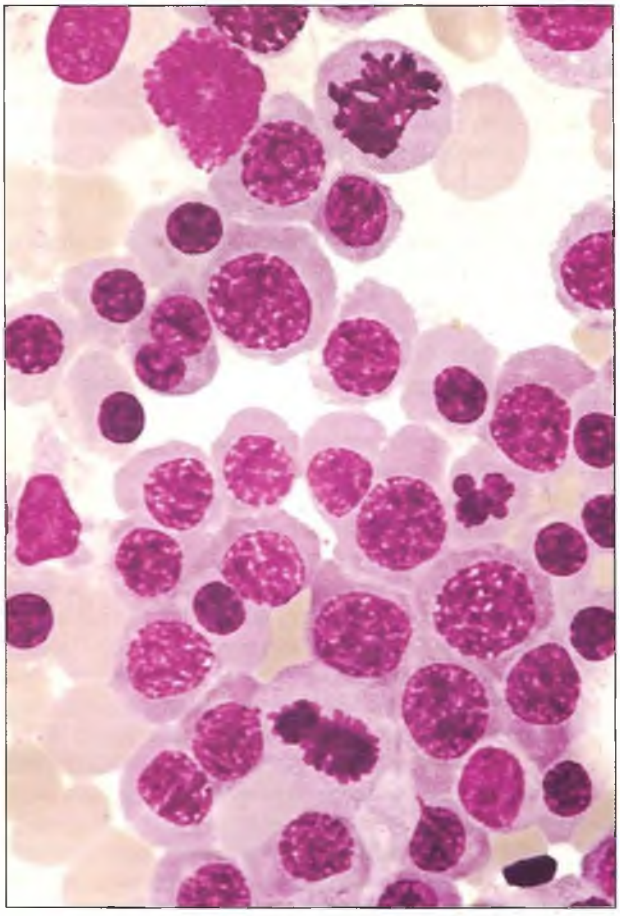


Figura 13.2. Frotis de médula ósea de una anemia refractaria sideroblástica (May-Grünwald-Giemsa ×1.000).

Cuando acompañando al 15% o más de sideroblastos anillados definitorios de la ARS se observa un 5% o más de blastos, el proceso se clasifica como AREB, dado el mayor significado pronóstico peyorativo de los blastos con respecto a la sideroblastosis anillada.

La ARS va acompañada de una marcada trombocitosis, situación que se comentará en el apartado de SMD/SMP.

Citopenia refractaria con displasia multilínea

Se trata de un SMD que cursa con bi o pancitopenia y cambios displásicos en más del 10% de las células de las líneas afectadas, con menos del 1% de blastos en la sangre y menos del 5% en la médula ósea, así como con una monocitosis en sangre inferior a 1×10^9/L. Representa aproximadamente una cuarta parte de todos los SMD, y el 15% si va acompañada, además, del 15% o más de sideroblastos en anillo, en cuyo caso se denomina *citopenia refractaria con displasia multilínea y sideroblastos en anillo*. Por lo demás, no presenta anomalías morfológicas distintivas de otros SMD. La mayoría son pacientes de edad avanzada que presentan un curso clínico variable y anomalías citogenéticas varias, con cariotipos complejos en casi el 50% de casos. Su evolución leucémica se cifra en el 10%, y la supervivencia media es de 33 meses, aproximadamente[19].

Anemia refractaria con exceso de blastos

Su incidencia varía notablemente según las distintas series, y oscila entre el 20 y el 50% de los SMD[10]. Constituye, junto con la AR la variedad más frecuente, y entre ambas suponen más del 50% del total de los SMD. Por definición, debe cursar, según sea el *tipo-1* o *tipo-2* de la OMS, con porcentaje de blastos medulares entre el 5 y el 9% en el tipo I, o el 10-19% en el tipo II, y en sangre periférica, entre menos del 5% y del 5 al 19%, respectivamente. Pueden observarse bastones de Auer, y su presencia obliga a la adscripción del SMD como AREB-2, al igual que ocurre en pacientes con 5 a 19% de blastos en sangre y menos del 10% de blastos en la médula.

Su curso clínico es el propio de una anemia rebelde que va acompañada habitualmente de granulocitopenia y trombocitopenia, que son importantes y con frecuencia causan infecciones y hemorragias que complican, muchas veces fatalmente, el proceso de estos pacientes antes de que se desarrolle la transformación leucémica.

El examen del frotis de sangre periférica revela, fundamentalmente, la presencia de una importante disgranulopoyesis, con doble población granulocítica que se manifiesta esencialmente por la coexistencia de elementos hipogranulares o agranulares junto con otros dotados de granulación normal o incluso hipergranulares[9]. Son también muy frecuentes las alteraciones de segmentación nuclear, con seudo Pelger homocigoto o heterocigoto adquirido, fragmentación nuclear e hipersegmentación. También es frecuente la presencia de cuerpos de Döhle en el citoplasma de los neutrófilos. Existen, además, llamativas alteraciones citoquímicas, con déficit total o parcial de mieloperoxidasa y disminución del índice de lactoferrina, que señalan, respectivamente, el descenso de las granulaciones primaria y secundaria. Son frecuentes la macrocitosis y la anisocromía, con eventual presencia de hematíes con punteado basófilo. Es habitual que se presenten simultáneamente alteraciones distrombopoyéticas.

La médula ósea suele ser hipercelular o normocelular, y está desviada a la izquierda con predominio de elementos de la serie granulopoyética[9]. La transformación leucémica se observa en el 30% o más de los casos, y está precedida fundamentalmente por el incremento de los blastos de tipo I. Estos blastos, de aspecto morfológico indiferenciado, pueden corresponder a mieloblastos, monoblastos, blastos eritroides o megacariocíticos, y pueden incluso manifestar expresión bi o trifenotípica. De las anomalías también presentes en la serie megacariocítica (megacariocitos gigantes o hipersegmentados, mononucleados o de aspecto morfológico hipoploide), la observación de un porcentaje superior al 10% del total con características hipoploides presagia una evolución leucémica a corto plazo.

El pronóstico de la AREB es claramente peor que el de la AR; la supervivencia es de unos 18 meses en la AREB-1, y de 10 meses en la AREB-2. Sin embargo, es importante destacar la existencia, no excepcional, de casos que sobreviven más de 2 años y aún 3 o 4 y, en raras ocasiones, más de 5 años[20]. La mayoría de series registran un porcentaje de evolución leucémica del 30%, y es incluso más frecuente que los pacientes fallezcan, antes de esta complicación terminal, por la presentación de infecciones y hemorragias derivadas de la leucotrombopenia que habitualmente la caracteriza.

No se comentará la variedad de anemia refractaria con exceso de blastos en transformación de la clasificación FAB, ya que siguiendo los criterios de la OMS cumple con las características de una leucemia mieloide aguda, y se tratará en el capítulo correspondiente. Se incluye la descripción de la leucemia mielomonocítica crónica, otra de las variedades del FAB, entre las entidades que configuran los denominados SMD/SMP, por coexistir en ella características mielodisplásicas y mieloproliferativas.

Síndromes mielodisplásicos no clasificables

Son SMD no encuadrables en ninguna de las categorías previamente expuestas, sin presentar características clinicobiológicas propias. Se trata de neutropenias o trombocitopenias aisladas dismórficas que se presentan especialmente en personas de edad avanzada, aunque también se han comunicado casos en individuos más jóvenes e incluso en niños, sobre todo si ha habido exposición a tratamientos citotóxicos o irradiación.

SMD con del(5q) como única anomalía

Es un subtipo de SMD al que la clasificación OMS ha otorgado categoría propia. Se caracteriza por una deleción intersticial del brazo largo del cromosoma 5 en la que existe un punto de rotura proximal en la región q13-q15, y uno distal en q31-q33. A ello se suma una hiperplasia de megacariocitos hipolobulados. Se presenta fundamentalmente en mujeres (relación varón/mujer: 3/7), con una edad media de presentación de 68 años y un 80% de pacientes que superan los 50 años. Cursa con anemia macrocítica refractaria y cifras normales o elevadas de plaquetas. El rasgo morfológico distintivo y de presencia obligada es el hallazgo en la médula de un incremento de megacariocitos unilobulados que, si en los sujetos sanos alcanzan como máximo hasta el 10% de los megacariocitos presentes, en este síndrome superan el 50% (fig. 13.3). En el momento de establecer el diagnóstico, alrededor del 80% de los pacientes tienen menos del 5% de blastos en médula ósea[15]. En el síndrome 5q– la citada anomalía es la única anomalía cromosómica; la mediana de supervivencia es de 63 meses, y sólo el 16% presenta evolución leucémica. El tratamiento con danazol, piridoxina y ácido cisretinoico es, generalmente, ineficaz.

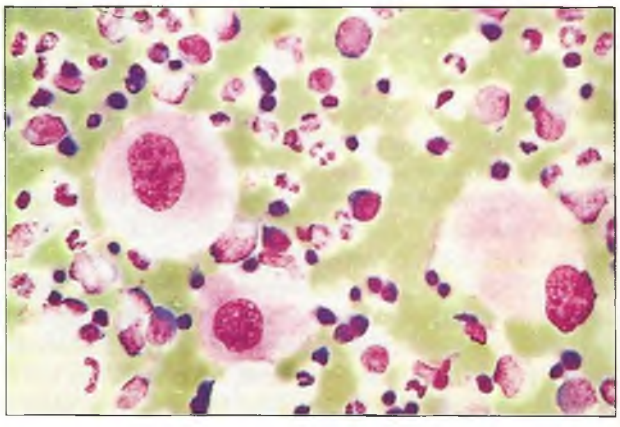


Figura 13.3. Megacariocitos monolobulados en una médula ósea de un síndrome 5q– (May-Grünwald-Giemsa ×500).

FORMAS ESPECIALES DE SMD

Síndrome mielodisplásico hipocelular

Se trata de un SMD, generalmente del tipo AR o AREB, que en vez de cursar con una médula ósea normo o hipercelular

presenta, ya en su inicio, una médula hipocelular, circunstancia que se observa en el 10-15% de casos. Para aceptar la existencia de hipocelularidad se requiere su constatación mediante la biopsia medular, y que la celularidad hematopoyética importe menos del 30% de la extensión del ciclindro óseo, si el paciente tiene menos de 60 años, y menos del 20% en pacientes de más edad. Una vez constatada la hipocelularidad, debe cuidarse de diferenciar el proceso de la aplasia medular y de las leucemias agudas hipocelulares. De la primera, cabrá separarla por la presencia de displasia morfológica llamativa y la eventual presencia de alteraciones cromosómicas que sólo se presentan en menos del 5% de pacientes con aplasia medular. En esta última decrece, además, el número de células germinales CD34 positivas y la expresión del antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA), circunstancias ambas que no se observan en los SMD[21]. La diferenciación de la AREB hipocelular con la leucemia aguda, asimismo, hipocelular, requiere contemplar la definición de leucemia aguda como proceso que cursa con un porcentaje de blastos igual o superior al 20% de todas las células nucleadas, separando las de la serie roja si el componente eritroblástico supera el 50% y con presencia de *hiatus* leucémico. Es más frecuente en el sexo femenino y, al parecer, la concomitancia de hipocelularidad en un SMD no tiene trascendencia pronóstica[22].

Síndrome mielodisplásico hiperfibrótico

Descrito por Sultan en 1981, se caracteriza por la presencia ya desde su inicio de intensa fibrosis medular, cuya constatación obliga a la práctica de una biopsia medular, y en la que se observa mielodisplasia trilínea y aumento de los megacariocitos y megacarioblastos medulares[23]. Cursa con intensa pancitopenia, ausencia, o cuando más muy moderada presencia, de hepatoesplenomegalia, y supervivencia más breve que la de la AREB. La existencia de importante mielofibrosis, regularmente ausente o poco expresiva en los casos bien definidos de SMD, confiere personalidad a esta variedad, que puede considerarse como una forma clínica diferenciada. Los dacriocitos y la leucoeritroblastosis, tan característicos de la metaplasia mieloide agnogénica, suelen estar ausentes. La principal dificultad que presenta su diagnóstico diferencial es con la mielofibrosis aguda maligna, que corresponde, generalmente, a una variedad de leucemia aguda de tipo M7. La mielofibrosis aguda maligna cursa también con pancitopenia, ausencia de organomegalias, pero con la habitual presencia de escasa blastosis periférica, generalmente megacarioblástica, sin mielodisplasia trilínea tan evidente y más breve supervivencia. Cabe admitir formas intermedias de difícil encasillamiento. Existen formas secundarias de SMD con fibrosis que se observan en pacientes tratados con radioterapia y/o quimioterapia, y que evolucionan con un menor porcentaje de megacarioblastos y con la misma fibrosis. En cualquier caso, la presencia de fibrosis y de aumento en la médula ósea de células CD61+, megacariocíticas o megacarioblásticas, obliga a razonar el diagnóstico dentro de este apartado. Se han descrito tres casos de excelente respuesta al tratamiento con prednisolona en dosis aproximada de 1 mg/kg de peso[24].

Anemia refractaria con displasia nuclear y PAS positividad eritroblástica

Le dedicamos unas breves líneas a pesar de que en la actualidad no se le concede individualidad propia ni por el grupo FAB ni por la OMS. Descrita por Dreyfus en 1974, se definió, como su nombre indica, por una intensísima displasia nuclear y por un acentuado depósito de glucógeno, observable tanto en los eritroblastos como en los hematíes. Hoy día, se considera que tanto la displasia eritroblástica como su PAS positividad forman parte integrante del fenómeno diseritropoyético global, restándoles la personalidad antaño concedida. Hay que reconocer, sin embargo, que es una forma especial de expresión de la diseritropoyesis, presente sólo en una minoría de los SMD[9].

SMD CON DETERMINADAS CARACTERÍSTICAS CITOGENÉTICAS

Aparte de la deleción del brazo largo del cromosoma 5 ya comentada, y a cuyo SMD acompañante la OMS concede personalidad propia, otras anomalías citogenéticas imprimen al SMD características clinicocitológicas peculiares.

Deleción 17p

Aunque con menor personalidad que el síndrome 5q–, el hallazgo de la deleción 17p en los síndromes mielodisplásicos, que casi siempre coincide con la variedad hematológica AREB, determina la presencia de un tipo particular de disgranulopoyesis, caracterizado por la observación, en más del 5% de los granulocitos segmentados, de anomalía seudo Pelger-Huët, y pequeñas vacuolas en los neutrófilos[25]. La deleción, que se halla también presente en el 3% de leucemias agudas mieloides, se identifica en alrededor del 5% de los síndromes mielodisplásicos. Es de mal pronóstico, y va acompañada de una elevada incidencia de mutaciones de la p53. El síndrome mielodisplásico es, a menudo, secundario a iatrogenia citostática.

SMD con alteraciones estructurales del cromosoma 3

La presencia de reordenamientos de 3q26 se observa, aproximadamente, en el 2% de pacientes que sufren leucemia aguda mieloide o síndrome mielodisplásico[26]. En el caso concreto de este último, la anomalía 3q determina la existencia de trombocitosis en el 15-20% de pacientes, de manera que cuando se observa una trombocitosis acompañando a una leucemia aguda mieloide o a un síndrome mielodisplásico, debe pensarse en esta anomalía cromosómica, sin olvidar el síndrome 5q–. Suele observarse una displasia medular llamativa, especialmente de la megacariopoyesis. Se trata de pacientes que no responden a la terapéutica convencional y de pronóstico grave.

Deleción 20q–

La deleción intersticial del brazo largo del cromosoma 20, como alteración cariotípica aislada, se observa tanto en los SMD como en los SMPC y, sobre todo, en la trombocitemia esencial. Mientras, Sanz et al[27], la juzgan como de buen pronóstico, otros como Campbell y Garson[28] la consideran de mal pronóstico al asociarla con un alto índice de transformación a leucemia aguda mieloide. La dishemopoyesis se centra, sobre todo, en la serie eritroblástica.

SMD PEDIÁTRICOS

Aun con ser poco frecuentes, representan el 10% de todas las hemopatías de la infancia[29]. Debe conocerse si incide en pacientes de menos o de más de 5 años. En niños menores de 5 años se presenta como un cuadro clínico citológico híbrido mieloproliferativo y mielodisplásico, frecuentemente asociado con defectos constitucionales genéticos o inmunitarios, con predominio en el sexo masculino y frecuente incidencia de monosomía 7. En niños mayores de 5 años las características son similares a las de los SMD del adulto, si bien la anemia refractaria sideroblástica es excepcional en la infancia (tabla 13.5).

TABLA 13.5

Características de los SMD pediátricos

Pacientes de < 5 años
- Cuadro clinicocitológico híbrido (SMD/SMPC)
- Asociación con defectos constitucionales genéticos/inmunes
- Predominio masculino
- Leucocitosis con monocitosis, desviación a la izquierda de la granulopoyesis con displasia
- Frecuente enfermedad extramedular con organomegalias
- Frecuente incidencia de monosomía 7
- Curso clínico variable, en general pronóstico pobre

Pacientes ≥ 5 años
- Características similares a los SMD del adulto
- Predominio de SMD de alto grado de malignidad
- Frecuente monosomía 7 asociada a otras anomalías
- Anemia refractaria con sideroblastos en anillo, excepcional

SMD RELACIONADOS CON LA TERAPÉUTICA

El SMD secundario[8] es el que se presenta en pacientes que han recibido fármacos citostáticos y/o irradiación, o que han estado expuestos a la acción nociva ambiental de algún tóxico, fundamentalmente benceno. Los fármacos que con mayor frecuencia son responsables son los agentes alquilantes, etopósido y antraciclinas, si bien se sospecha, además, de la posible implicación de la procarbacina. Asimismo, hay indicios de que el melfalán es más leucemógeno que la ciclofosfamida. Su incidencia en la enfermedad de Hodgkin es la más estudiada, con un porcentaje de riesgo relativo que oscila entre 2,2 y 3,3 a los 15 años. Se presenta, asimismo, en autotrasplantados, y mucho más raramente tras alotrasplantes. El SMD secundario es más frecuente en pacientes cuya edad supera los 40 años y que han recibido tales fármacos.

El SMD secundario se presenta después de haber transcurrido como mínimo un año de la exposición al fármaco y, fundamentalmente, durante la primera década, siendo máxima la incidencia entre los 4 y 5 años. Su presentación disminuye claramente en la segunda década. La irradiación es más a menudo responsable cuanto más extensa sea, aunque se trate de dosis bajas.

Cursa con anemia y trombocitopenia predominantes y, a diferencia del SMD primario, en el 25-50% de casos la médula es pobre, con fibrosis reticulínica moderada o intensa en el 15-80% de casos. El cuadro medular es muy difícil de clasificar según los criterios del FAB, no sólo porque a menudo es globalmente hipoplásico sino porque, con una citología más próxima a la de la AREB, con acentuada disgranulopoyesis y distrombopoyesis, muestra en cambio menos del 5% de blastos. Atendiendo pues a los criterios del FAB, se trata muy a menudo de una AR, pero con la intensa disgranulopoyesis y distrombopoyesis propia de la AREB. Cursa, mucho más a menudo que el SMD primario, con alteraciones cromosómicas, que en el 90% de los pacientes afectan a los cromosomas 5 y 7 y, con menor frecuencia, al 17 y 21. Cuando, como ocurre más raramente, se detecta una sola anomalía, la más frecuente es la monosomía 7.

Se han descrito varios casos de t(3;21) después de recibir tratamiento con agentes alquilantes y etopósido, y también como consecuencia de la acción tóxica de disolventes orgánicos. Estos casos no cursan con rasgos hematológicos específicos, pero suelen asociarse con AREB, y cursan más a menudo con trombocitopenia[30].

La frecuencia de transformación a leucemia aguda (LA) es mucho más elevada que en los SMD primarios, cifrándose en el 55-84%. La leucemia aguda secundaria también es difícil de clasificar según el FAB, pues habitualmente es trilínea. Los tipos hallados, que siguen en orden de frecuencia, son M_1, M_2 y M_4. Se ha observado algún caso de LA linfoblástica y de leucemia mieloide crónica.

El SMD secundario y la LA secundaria son de pronóstico infausto, con una supervivencia mediana de sólo 10 meses. Son muy resistentes al tratamiento y, como única opción, en los pacientes más jóvenes, cabe el trasplante medular alogénico.

En la práctica clínica y en un porcentaje reducido de pacientes, que oscila alrededor del 5%, cabe observar la coincidencia de rasgos propios de los SMD y de los síndromes mieloproliferativos crónicos[31]. Las situaciones más habituales son el hallazgo de una trombocitosis acompañando a una ARS o, con menor frecuencia, a una AREB o LMMC, y la presencia de leucocitosis granulocítica en un proceso por lo demás integrable a los SMD, pero no identificable con la LMMC. En la primera circunstancia, la presencia de trombocitosis posee más bien un buen significado pronóstico, y obliga a indagar si se asocia con alteraciones estructurales del cromosoma 3 y con la deleción del brazo largo del cromosoma 5 (5q–). En el segundo caso, que se observa más en varones, encaja a menudo en el concepto de leucemia mieloide crónica atípica, Ph negativa, bcr-abl negativa, que puede cursar con cierto grado de mielofibrosis y el cuadro clínico dominante de una anemia de tipo refractaria, con o sin esplenomegalia moderada. Una tercera eventualidad es el hallazgo de mielofibrosis asociada con una sideroblastosis anillada. Asimismo, puede darse la posibilidad del hallazgo de sideroblastos anillados en casos de leucocitosis granulocítica y mielofibrosis acompañante. Entre los SMD y los SMPC caben situaciones intermedias evolutivas en uno y otro sentido.

DIAGNÓSTICO

Establecer el diagnóstico de SMD es fácil cuando se dan suficientemente los criterios definitorios antes expuestos. Todos ellos son, en realidad, la expresión de la patología de una célula germinal pluripotente, patología que es multidireccional y que sólo cabe englobar en el amplio concepto, expuesto en el capítulo anterior, de la mielopatía. No es, pues, de

extrañar que existan problemas de diagnóstico diferencial y de sobreposición con los síndromes mieloproliferativos crónicos, ciertas aplasias y aun leucemias, ya que todos ellos derivan y son variantes de la expresión de un fenómeno que se origina y desarrolla en el mismo marco de las mielopatías.

La dificultad empieza cuando falla alguno o bastantes de los criterios aludidos. Al comienzo puede detectarse sólo una valorable macrocitosis aislada, o una trombocitopenia aislada (un 5% de las trombopenias aisladas[32] de personas de más de 50 años se deben a un SMD que no presenta ninguna otra manifestación) o la médula puede ser hipocelular o con fibrosis reticulínica, y puede que los signos dismórficos celulares sean mínimos y no suficientemente expresivos. Es lo que Hamblin[33] denomina NQMDS (*not quite MDS*) o NYMDS (*not yet MDS*). En ocasiones, los SMD se presentan bajo la apariencia de un estado proliferativo, como ocurre en la LMMC o con las trombocitosis que acompañan al síndrome 5q–, o alteraciones estructurales del cromosoma 3. En estos casos, habrá que esperar la evolución del proceso, a no ser que aparezcan anomalías cromosómicas o génicas muy indicativas. Con el tiempo, también pueden ir apareciendo suficientes rasgos dishemopoyéticos, o configurarse el cuadro definido de un determinado SMD.

En la tabla 13.6 se exponen los tres grupos de posibilidades en relación con las dificultades diagnósticas[34]. En estos casos, poco manifiestos, en los que cabe aplicar criterios mínimos, también puede ser útil recurrir a los criterios y datos expuestos en la tabla 13.7.

Con las llamadas leucemias oligoblásticas o pauciblásticas que cursan con pancitopenia, blastosis medular, pero no periférica, y disgranulopoyesis, se plantea un diagnóstico diferencial no excepcional y poco comentado en la mayoría de tratados. La circunstancia de que esta variedad de leucemia se produzca en el contexto de una médula pobre o con el *hiatus* leucémico típico, que no se observa en los SMD con blastosis, permite a menudo descartar el diagnóstico de SMD, aunque la existencia de SMD con hipocelularidad determina dificultades en determinados casos.

En la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) se presentan, a menudo, citopenias con rasgos morfológicos dishemopoyéticos que afectan, por orden de frecuencia, las series roja, megacariocítica y granulocítica. La médula, generalmente hipercelular, también puede ser hipocelular. A diferencia de lo que ocurre en los SMD primarios, no se observa tendencia a la transformación en leucemia aguda.

TABLA 13.6

Grupos diagnósticos en los síndromes mielodisplásicos (SMD)

Grupo	Rasgos	Seguimiento
1. SMD incierto o precoz	Displasia mínima Citogenética normal Cultivos celulares normales	Control cada 3-6 meses
2. SMD probable	Displasia moderada Citogenética normal Cultivos celulares anómalos	Control frecuente
3. SMD confirmado	Displasia manifiesta Citogenética expresiva	Adaptada a cada caso

Modificada de Culligan y Jacobs[34].

TABLA 13.7

Diagnóstico de los síndromes mielodisplásicos primarios

- Criterios de exclusión
  - Antecedente citotóxico o presencia de déficit nutricional (ácido fólico y B_{12}, hierro, intoxicación por arsénico, metales pesados, hepatopatía, nefropatía o infección por VIH y otros virus)
  - Cromosoma Ph-positivo
  - Presencia de blastosis medular superior al 20%
- Criterios de inclusión
  - Dishemopoyesis expresiva de una línea o más
  - Alteraciones cromosómicas clonales
  - Cultivos celulares expresivos
- Datos indicativos
  - Edad superior a 50 años
  - Citopenia uni o multilínea sin otra hemopatía fundamental
  - Macrocitosis inexplicada
  - Médula rica con citopenia no catalogada
  - Sustitución de colonias granulomonocíticas por agregados en los cultivos celulares *in vitro*
  - Hiposegmentación, hipogranulación de una población de neutrófilos, micromegacariocitos y megacariocitos unilobulados

EVOLUCIÓN Y PRONÓSTICO

En la tabla 13.8 se resume la supervivencia media y la tendencia a la evolución leucémica de los SMD según los promedios ya consignados y registrados en diversas series[10]. Asimismo, en la tabla 13.9 se mencionan distintos rasgos que caracterizan la evolución leucémica aguda.

TABLA 13.8

Supervivencia y evolución leucémica aguda de los diversos síndromes mielodisplásicos

	Supervivencia	Evolución a leucemia aguda
ARS pura	70% a los 5 años	< 2%
ARS trilínea	20% a los 5 años	50%
AR	> 2 años	10-20%
AREB	< 1 año	30%
AREBT	< 6 meses	> 50%
LMMC	Criterios dispares de definición	Criterios dispares de definición

AR: anemia refractaria simple; ARS: anemia refractaria sideroblástica; AREB: anemia refractaria con exceso de blastos; AREBT: anemia refractaria con exceso de blastos en transformación; LMMC: leucemia mielomonocítica crónica.

TABLA 13.9

Alarmas de transformación leucémica

Aumento de los blastos tipo I
Aparición o adición de anomalías citogenéticas-moleculares
Aparición de hiato leucémico en la médula ósea
Aumento del grado de la disgranulopoyesis
Desaparición de las colonias o de todo tipo de crecimiento en los cultivos celulares *in vitro*

Ha de subrayarse también, como ya se ha mencionado, que son más frecuentes las muertes por complicaciones infecciosas o hemorrágicas derivadas de las citopenias, que no por la misma transformación leucémica. Esta última se produce con mayor frecuencia en los pacientes más jóvenes[10].

Otra posible eventualidad es la presentación de tumores sólidos, como se ha constatado en el 13,6% de nuestros pacientes, y que son especialmente frecuentes en la LMMC. Pueden preceder o ser simultáneos a la hemopatía, que podría adquirir entonces carácter paraneoplásico. Estos tumores se añaden a las posibles causas de muerte de estos pacientes[35-37].

También ha sido descrita la asociación del SMD con proliferaciones linfoplasmocíticas[38,39]. En la serie inicial de Copplestone et al[38], de 20 casos registrados, 9 correspondían a mieloma, 3 a leucemia linfática crónica, 5 a linfomas diversos y 3 a gammapatías monoclonales benignas. Esta asociación puede no tener significación estadística, pero también ha sido observada por nosotros en el 7,5% de nuestros 156 casos[35].

Otra circunstancia que debe destacarse es la coincidencia con procesos autoinmunes[39] que cursan con hiper o hipogammaglobulinemia, y raramente con gammapatía monoclonal. La incidencia global de autoanticuerpos no parece estadísticamente significativa, con la posible salvedad de los antieritrocitarios. Parece ser que la LMMC es la variedad que cursa más a menudo con positividad para la prueba de Coombs y otras anomalías inmunológicas. Acompañando a los SMD se han descrito casos de anemia perniciosa, hipotiroidismo, trombocitopenia inmune, síndrome de Sweet y vasculitis diversas. La celularidad T CD4+ a menudo está deprimida. También las células *natural killer* (NK) se hallan frecuentemente reducidas en número y función.

Con finalidad práctica, se han elaborado diferentes esquemas pronósticos, como el denominado índice de Bournemouth[40], de fácil reproducibilidad. Se adjudica un punto por la presencia de cada uno de los siguientes parámetros: *a*) hemoglobina < 10 g/dL; *b*) neutrófilos < 2,5 × 10^9/L; *c*) plaquetas < 100 × 10^9/L, y *d*) blastosis medular > 5%. Por tanto, el índice puede oscilar entre 0 y 4. Agrupando a los pacientes en tres categorías: A (índices 0 y 1), B (índices 2 y 3) y C (índice 4), se observa que su supervivencia media es, respectivamente, de 62, 22 y 9 meses y la probabilidad de evolución a leucemia aguda del 11, 18 y 34%. Sanz et al[41] han propuesto, asimismo, sobre la base de análisis multivariante, otro sistema con los siguientes parámetros: un índice de 2 se asigna a los pacientes con más del 10% de blastos en médula ósea y una cifra de plaquetas en sangre igual o inferior a 50 × 10^9/L, mientras que el índice 1 se reserva para los pacientes que presentan un 5-10% de blastos medulares, entre 50 y 100 × 10^9/L plaquetas y edad superior a 60 años, y el índice 0 para aquellos pacientes con < 5% de blastos en médula ósea, más de 100 × 10^9/L plaquetas y de menos de 60 años. De esta forma, el índice final puede oscilar entre 0 y 5, y se establecen tres grupos: A, con un índice de 0 o 1; B, con un índice de 2 o 3, y C, con un índice de 4 o 5. Se constituyen, así, tres grupos de riesgo: bajo (índice 0-1), intermedio (2-3) y alto (4-5). Las diferencias en la evolución clínica y la transformación leucémica son altamente significativas según se registren menos del 5% de blastos, entre el 5 y el 10% y entre el 11 y el 30%.

Las anomalías cariotípicas también poseen un importante valor pronóstico[27]. En general, los casos que cursan con cariotipo normal, y que importan aproximadamente algo más de la mitad de todos los pacientes con SMD primario, ofrecen mejor pronóstico que aquellos que presentan una o más anomalías cromosómicas. En este sentido, el síndrome 5q– y el hallazgo aislado de del(20q) y de –Y constituyen una excepción, dado su relativo buen pronóstico. Asimismo, en pacientes jóvenes con médula hipocelular, la trisomía parcial 1q confiere una cierta mejor evolutividad. En cambio, las anomalías aisladas +8, iso(17q), del(12p) y particularmente del cromosoma 7, determinan un pronóstico desfavorable. Hay acuerdo general en que los pacientes que presentan múltiples anomalías cromosómicas poseen muy pobre pronóstico. Asimismo, la presentación de alteraciones cariotípicas en pacientes que no las tenían, o la adición de nuevas anomalías, anuncian mayor tendencia a la progresión a una variedad más agresiva o a la presentación de leucemia aguda mieloide, y suelen asociarse a una corta supervivencia. Estas circunstancias son de especial valor en pacientes que presentan AR y ARS. Con todo, hay que remarcar que la estabilidad cromosómica no excluye el desarrollo de leucemia.

En adición al valor pronóstico comentado, tanto del porcentaje de blastos como del grado de citopenia y de las anomalías cariotípicas, se han identificado otros datos de valor pronóstico peyorativo, como el sexo masculino, la presencia de precusores mieloides inmaduros y de células rojas nucleadas en la sangre periférica, así como un significativo aumento de las LDH. También el hallazgo de ALIPS en la biopsia ósea suele anunciar una peor evolución.

Recientemente, atendiendo a todos estos parámetros y a instancias del International MDS Risk Analysis Workshop, se ha establecido un índice pronóstico internacional (International Prognostic Scoring System-IPSS) para los síndromes mielodisplásicos[27]. Este índice se basa en otorgar una puntuación que puede oscilar entre 0 (bajo riesgo) y 3,5 (alto riesgo), atendiendo al porcentaje de blastos, grado de citopenia y ausencia o presencia de anomalías cariotípicas. Las citopenias se puntúan cuando la hemoglobina es inferior a 10 g/dL, el recuento absoluto de neutrófilos por debajo de 1,8 × 10^9/L y el de plaquetas por debajo también de 100 × 10^9/L, de manera que el índice es 0 cuando no existe citopenia o sólo hay una, y es 0,5 cuando se constatan dos o tres citopenias. Cabe destacar que la variedad proliferativa de LMMC, que el grupo FAB admite cuando los pacientes poseen un recuento leucocitario superior a 13 × 10^9/L, se excluye de este análisis. El porcentaje de blastos medulares se puntúa con el dígito 0 cuando es inferior a 5, con 0,5 cuando oscila entre 5 y 10, con 1,5 cuando oscila entre 11 y 20, y con 2 cuando se encuentra entre 21 y 30. En relación con las anomalías cariotípicas el índice es 0 cuando no las hay o se concretan aisladamente al síndrome 5q, al 20q y al

–Y, es 1 cuando hay más de dos anomalías o se trata de alteraciones que afectan al cromosoma 7, y es 0,5 en los restantes casos. Se configuran así cuatro distintas posibilidades de riesgo: bajo, intermedio 1, intermedio 2 y alto (tabla 13.10). Con todo, y como después también se subrayará en el apartado terapéutico, todos estos índices pronósticos poseen limitaciones prácticas, por cuanto la elección del tratamiento depende mucho más de la edad y del estado general del paciente que de los propios índices.

SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS/SÍNDROMES MIELOPROLIFERATIVOS CRÓNICOS (SMD/SMP)

Los síndromes mielodisplásicos/mieloproliferativos crónicos (SMD/SMP) son enfermedades clonales mieloides que, ya desde su inicio, presentan signos mielodisplásicos y mieloproliferativos[11]. Esta circunstancia debe diferenciarse de un SMP que, en el transcurso de su evolución, presentase rasgos dismórficos, indicativos generalmente de una progresión a una fase de transformación. En un SMD/SMP se registra, por ejemplo, proliferación eficaz de una línea celular hematopoyética con coexistencia de una marcada displasia morfológica y funcional, y, simultáneamente, otra línea celular puede exhibir proliferación ineficaz, con la resultante citopenia.

Aproximadamente el 4,5% de los SMD comparten datos de SMP. La clasificación de la OMS individualiza cuatro entidades, que se detallan a continuación. La leucemia mielomonocítica crónica ya se había individualizado en la clasificación FAB, y se había reconocido una variante proliferativa y otra mielodisplásica según que el número de leucocitos superase o no la cifra de 13 × 10^9/L. Es premisa indispensable para diagnosticar un SMD/SMP que el cromosoma Philadelphia y el gen de fusión *BCR/ABL* sean negativos, y que el porcentaje de células blásticas en sangre y médula ósea no iguale o supere el 20%.

Leucemia mielomonocítica crónica

La LMMC es la enfermedad más representativa y frecuente entre los síndromes englobados por la OMS bajo la denominación de SMD/SMP. Sus criterios diagnósticos se anotan en la tabla 13.11. Se presenta en individuos mayores, con predominio del sexo masculino. Se observa generalmente esplenomegalia, palpable en el 30-50% de los casos, hepatomegalia y, en ocasiones, adenopatías e infiltración cutánea, acompañada de síntomas generales. La afectación de serosas es muy infrecuente. Cursa a menudo con hipergammaglobulinemia policlonal y, más raramente, monoclonal. Excepcionalmente, se evidencia una prueba de Coombs positiva. La aceptación de formas asociadas a neoplasias sólidas es significativa en nuestra experiencia[42] y en la de otros autores. Presenta una gran heterogeneidad clinicoevolutiva. La mediana de supervivencia en la mayoría de las series oscila entre 20 y 40 meses, y la progresión a leucemia aguda mieloide se registra en el 15-30% de pacientes. Aproximadamente la mitad de los pacientes presenta neutropenia acompañada de monocitosis relativa y signos dismórficos afines a los observados en los SMD. En el restante 50% de enfermos se detecta leucocitosis, y el proceso tiene un cariz más mieloproliferativo que mielodisplásico[43,44]. La monocitosis sanguínea absoluta (> 1 × 10^9/L) y la relativa (> del 10% de monocitos en el frotis sanguíneo) constituye el signo guía morfológico de esta enfermedad. Los monocitos pueden tener un aspecto muy próximo al normal, pero en ocasiones ofrecen cierto abigarramiento, sobre todo del núcleo, que aparece hiperlobulado y con cromatina más fina (fig. 13.4). Si la presencia de promonocitos (monocitos con nucléolo visible en el microscopio de luz) y/o de monoblastos iguala o supera el 20% se emitirá un diagnóstico de leucemia aguda. De entre los elementos de la granulopoyesis hay que prestar especial atención a la cuantía de

TABLA 13.11

Criterios diagnósticos de la leucemia mielomonocítica crónica

- Monocitosis persistente > 1 × 10^9/L (> 10% de monocitos)
- Ausencia de cromosoma Philadelphia o de gen de fusión *BCR/ABL*
- < 20% de células blásticas (mieloblastos + monoblastos + promonocitos) en sangre periférica o en médula ósea
- Displasia morfológica en una o más de las líneas mieloides

En caso de ausencia de mielodisplasia o expresión mínima de ésta, se requiere:

- Anomalía citogenética clonal adquirida
- Monocitosis persistente por más de 3 meses
- Exclusión de otras causas de monocitosis reactivas

TABLA 13.10

Índice pronóstico internacional (IPSS)

	Puntos						
	0	0,5	1	1,5	2	Grupo de riesgo	Puntuación
						Bajo	0
Blastos en médula (%)	< 5	5-10		11-20	21-30	Intermedio 1	0,5-1
Cariotipo*	Bueno	Intermedio	Malo			Intermedio 2	1,5-2
Citopenias**	0 o 1	2 o 3				Alto	2,5-3,5

Bueno: normal, del(5q) aislada, del(20q) aislada, –Y aislada. *Malo*: muy complejo (> 2 anomalías); anomalía del cromosoma 7. *Intermedio*: +8, dos anomalías.

**Citopenias: hemoglobina > 100 g/L, plaquetas < 100 × 10^9/L, neutrófilos < 1,8 × 10^9/L.

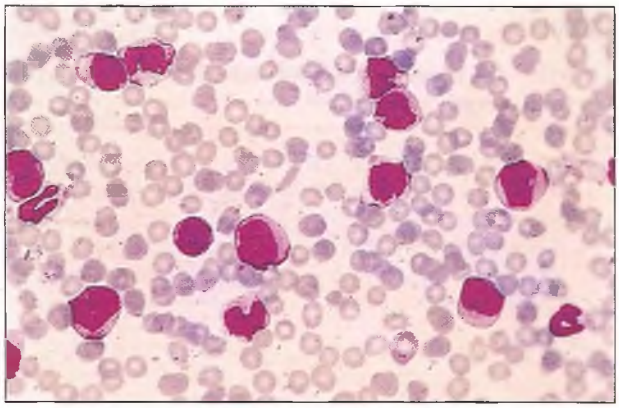


Figura 13.4. Frotis de una leucemia mielomonocítica crónica (May-Grünwald-Giemsa ×500).

eosinófilos (> 1,5 × 10^9/L) ya que las LMMC con eosinofilia pueden asociarse con alteraciones citogenéticas específicas, como t(5;12) (q31;p12), con el gen de fusión *TEL/PDGFβR*, y los casos que cursan con eosinofilia pronunciada pueden presentar alteraciones en distintos órganos por la liberación de diversas sustancias biológicamente muy activas contenidas en los gránulos eosinófilos. La basofilia suele ser inexistente o mínima, y también se observan algunos granulocitos inmaduros en la sangre, que no suelen superar el 10% de los leucocitos. Los signos dishemopoyéticos son los habituales de los SMD, destacando una especial frecuencia de sideroblastosis anillada inferior al 15%. La médula ósea es hipercelular en más del 75% de los pacientes, sobre todo a expensas de la granulomonopoyesis. La proliferación monocítica resulta a primera vista menos aparente de lo que es en realidad, ya que el fenotipo monocítico siempre se aprecia mejor en la sangre que en la médula ósea; de ahí la conveniencia de aplicar técnicas citoquímicas (especialmente, esterasas inespecíficas y su inhibición con FNa). Para evaluar la cuantía del componente monocítico también resulta muy interesante dosificar la muramidasa en suero y orina, para su certera identificación. La biopsia medular –hipercelular en la mayoría de los casos o normo/hipocelular en una minoría– destaca especialmente bien la serie megacariocítica, y mejor aún si se marca con anti-CD61, los micromegacariocitos que suelen ser abundantes. Una tercera parte de las biopsias muestran fibrosis reticulínica de grado variable, y no es infrecuente el hallazgo de nódulos linfoides. Atendiendo al número de blastos y de promonocitos, la OMS[11] recomienda subclasificar la LMMC en dos categorías: LMMC-1 si el número de blastos en sangre es inferior al 5% y en la médula ósea al 10% y LMMC-2 cuando las células blásticas importan el 5 a 19% en la sangre o 10-19% en la médula o cuando se observen bastones de Auer, siempre con menos del 20% de blastos. Ambas subvariedades, si además existe eosinofilia en la cuantía previamente citada, se etiquetan de LMMC-1 o LMMC-2 con eosinofilia.

El inmunofenotipo expresa marcadores mieloides y monocíticos (CD33, CD13, CD14, CD68, entre otros), pero como toda célula neoplásica, puede ofrecer inmunofenotipos aberrantes.

El cultivo de los progenitores *in vitro* posee un notable valor diagnóstico, al observarse un crecimiento espontáneo de agregados y de colonias constituidos fundamentalmente por elementos monocíticos; este patrón de crecimiento es sensiblemente distinto al que se observa en la AREB[17].

El diagnóstico diferencial con los SMP es, en algún paciente, muy comprometido, pues la esplenomegalia, leucocitosis y mielofibrosis pueden simularlos fácilmente. El estudio citogenético y molecular es imprescindible. Otro diagnóstico diferencial que se debe establecer es con los síndromes mieloproliferativos que cursan con t(8;13) o con t(8;9), síndromes que también pueden presentar leucocitosis y monocitosis.

Ninguna anomalía genética es específica de LMMC. Al igual que en otras mielopatías, suele registrarse +8, –7/del(7q), alteraciones de 12p o i(17q). Muchos pacientes exhiben mutaciones de los genes de la familia RAS.

Leucemia mieloide crónica atípica

La leucemia mieloide crónica atípica es otra entidad encuadrada en los SMD/SMP de la clasificación de la OMS[11] y que presenta características similares a la leucemia mieloide crónica típica, pero con dos características diferenciales fundamentales: negatividad del cromosoma Philadelphia y del gen de fusión *BCR/ABL*, así como marcados rasgos displásicos que afectan, desde su inicio, a todas las líneas hematopoyéticas[45]. Se trata de una entidad poco frecuente, cifrada en 1-2 casos por cada 100 de leucemia mieloide crónica típica. Hasta el presente existen pocas series, y suele incidir en pacientes en la séptima u octava décadas de la vida; la supervivencia media es inferior a 20 meses, y el 24-40% de los enfermos mueren de leucemia aguda y el resto por fallo medular. Sus principales criterios diagnósticos se especifican en la tabla 13.12.

TABLA 13.12

Criterios diagnósticos de la leucemia mieloide crónica atípica

- Leucocitosis sanguínea (aumento de neutrófilos maduros e inmaduros)
- Disgranulopoyesis prominente (cromatina condensada, aspecto seudo Pelger, etc.)
- Ausencia de cromosoma Philadelphia o del gen de fusión *BCR/ABL*
- Precursores neutrófilos (promielocitos, mielocitos y metamielocitos ≥ 10% de los leucocitos)
- Basofilia mínima (< 2% o ausente)
- Monocitosis absoluta ausente o mínima
- Monocitos < 10% en la fórmula leucocitaria
- Médula ósea hipercelular con proliferación granulocítica displásica con o sin displasia de las series eritroide y megacariocítica
- < 20% de blastos en sangre periférica o en médula ósea

Forma variante: síndrome de condensación cromatínica anómala

En sangre periférica se registra leucocitosis, a veces extrema, a expensas de neutrófilos maduros e inmaduros que muestran importantes dismorfias; una de ellas, la más destacada, es la condensación anormal de la cromatina, con intenso apelotonamiento cromatínico de los granulocitos, tanto maduros como inmaduros, con pérdida de la segmentación nuclear (fig. 13.5), y que se considera una forma variante de

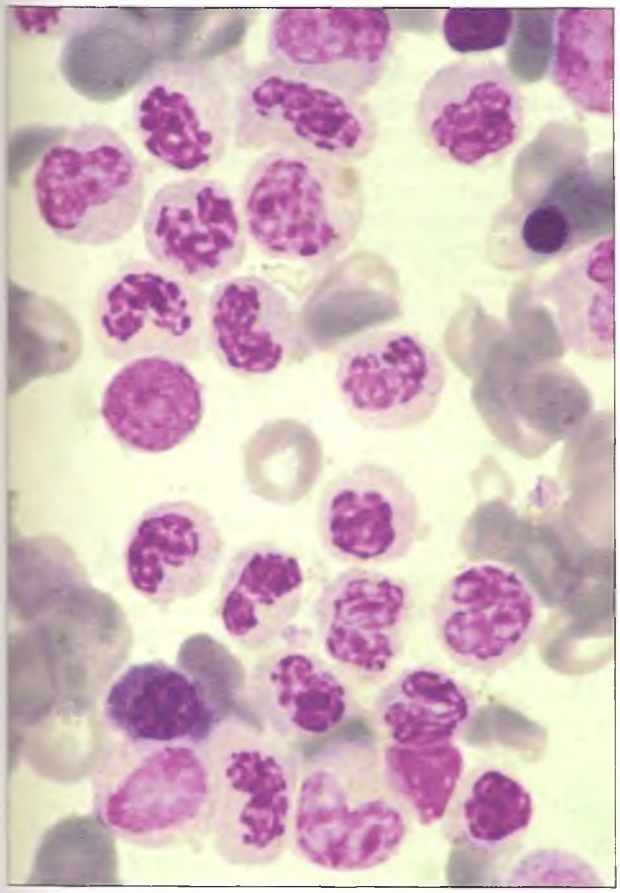


Figura 13.5. Frotis medular de una leucemia mieloide crónica atípica, con marcada condensación anómala de la cromatina (May-Grünwald-Giemsa ×1.000).

leucemia mieloide crónica atípica, descrita inicialmente por Felman, denominada síndrome de la condensación cromatínica anómala, y que muestra una supervivencia similar a la reportada en la forma clásica. Las células blásticas están, generalmente, en proporción inferior al 5%, y si bien el número absoluto de monocitos puede estar elevado, su valor relativo rara vez excede el 10%. Una moderada anemia con macrooovalocitosis y trombocitopenia son datos analíticos habituales. En la exploración física destaca la esplenomegalia y la hepatomegalia. La médula ósea es hipercelular, sobre todo a expensas de una proliferación granulosa displásica con moderada presencia de células blásticas. La relación mielo-eritroide es superior a 10:1. La megacariopoyesis está presente, pero con displasia. En algunos casos, se advierte un aumento de la trama reticulínica, ya desde su inicio o en el transcurso evolutivo. A diferencia de la leucemia mieloide crónica típica, esta forma atípica presenta valores variables de fosfatasa alcalina granulocítica, por lo que su determinación no tiene utilidad diagnóstica. No existen hallazgos genéticos específicos; en más del 80% de los pacientes se hallan alteraciones citogenéticas propias de hemopatías mieloides, como +8, del(20q), i(17q), del(12p), entre otras. Los pacientes presentan una corta supervivencia.

Leucemia mielomonocítica juvenil

La leucemia mielomonocítica juvenil (LMMJ) es una enfermedad hematopoyética clonal de la infancia, con proliferación preferente de las series granulosa y monocítica, pero con participación de las restantes líneas hematopoyéticas. Recientemente, se han propuesto sus criterios diagnósticos, que se resumen en la tabla 13.13. Representa menos del 3% de todas las leucemias infantiles, y del 20 al 30% de todas las enfermedades mielodisplásicas y mieloproliferativas en menores de 14 años[46,47]. Sin embargo, la mayoría de niños afectados tienen menos de 3 años, la incidencia es superior en el sexo masculino que en el femenino, y en aproximadamente el 10% de los casos incide en pacientes afectados de neurofibromatosis tipo 1. El pronóstico es pobre, y la mayoría experimentan rápida progresión, con muerte antes del año de su diagnóstico, si bien algunos pacientes pueden sobrevivir más de cuatro años. El 10-20% de los niños afectados evolucionan a leucemia aguda. La infiltración leucémica se produce en los mismos órganos que en la LMMC; a las manifestaciones clínicas de ésta se suman frecuentes fenómenos infecciosos (bronquitis, amigdalitis) y hemorrágicos. Suelen observarse manchas cutáneas de color café con leche en pacientes con neurofibromatosis asociada.

TABLA 13.13

Criterios diagnósticos de la leucemia mielomonocítica juvenil

- Monocitosis en sangre periférica $> 1 \times 10^9$/L
- < 20% de blastos (incluyendo promonocitos) en sangre periférica y en médula ósea
- Ausencia de cromosoma Philadelphia o de gen de fusión *BCR/ABL*

Dos o más de los siguientes criterios:

- Aumento de hemoglobina fetal en relación a la edad
- Granulocitos inmaduros en sangre periférica $> 10 \times 10^9$/L
- Anomalías cromosómicas (monosomía 7)
- Hipersensibilidad *in vitro* de GM-CSF; formación espontánea de colonias granulomonocíticas

Debe recordarse que muchos datos de laboratorio de esta enfermedad remedan procesos infecciosos, por lo que si no se ha demostrado su origen clonal, debe descartarse todo tipo de enfermedades infecciosas y víricas. Entre las pruebas de laboratorio, adquieren especial importancia los cultivos *in vitro* de los progenitores granulomonocíticos, con formación espontánea de extensas colonias, y su marcada sensibilidad al factor estimulante de colonias granulomonocíticas (GM-CSF). Un aumento de la hemoglobina fetal superior al 15% en relación a la edad del niño confiere un mal pronóstico. También se detecta hipergammaglobulinemia policlonal, y una gran elevación de la muramidasa sérica; son datos adicionales útiles para este diagnóstico.

El examen de sangre periférica es muy informativo, detectándose importante leucocitosis que puede superar los 100×10^9/L a expensas de granulocitos predominantemente inmaduros y de monocitos más o menos abigarrados. Los blastos representan menos del 5% de la totalidad celular, con ausencia de bastones de Auer y con escasa eosinofilia o basofilia. Es frecuente la presencia de eritroblastos circulantes. Los casos con monosomía 7 suelen cursar con macroci-

tosis. En la médula ósea se detecta la esperada hiperplasia granulomonocítica con displasia poco acentuada (fig. 13.6). La manera más certera de cuantificar el componente granulocítico y el monocítico es a través de las reacciones histoquímicas de la esterasa específica y de las esterasas inespecíficas, respectivamente.

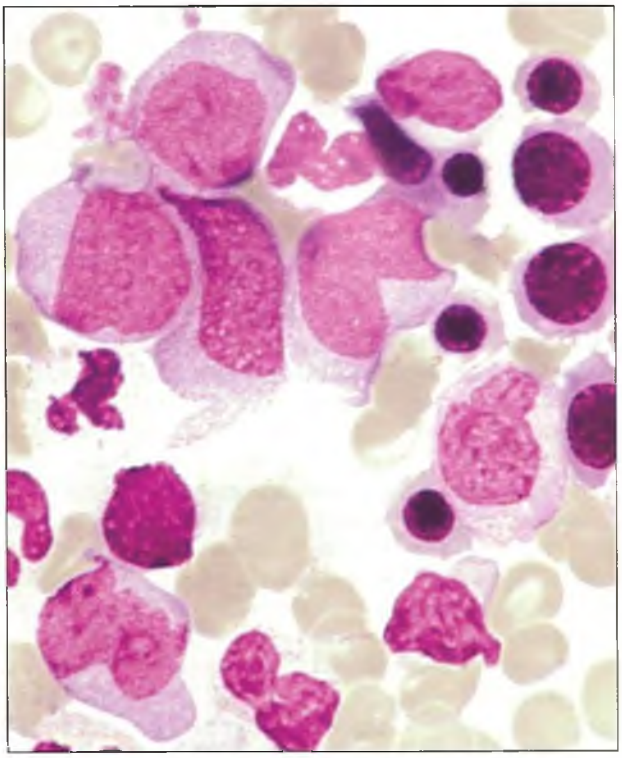


Figura 13.6. Médula ósea de una leucemia mielomonocítica juvenil en la que destaca el componente mieloide y el monocítico (May-Grünwald-Giemsa ×1.000).

Entre los trastornos citogenéticos que se detectan en el 30-40% de los pacientes, destaca especialmente la monosomía 7, por lo que muchos autores lo califican como el síndrome de la monosomía 7. La alteración del gen *NF-1* registrado en alguno de estos pacientes, incluso sin presentar el fenotipo de la neurofibromatosis, conduce a una pérdida de la proteína neurofibromina, importante reguladora de los genes de la familia RAS en los que son frecuentes mutaciones puntuales.

SMD/SMP no clasificables

Son mielopatías que comparten datos clinicoanalíticos de SMD y de SMP, pero que no cumplen criterios para ser incluidos en las categorías de SMD/SMP previamente descritas. Los criterios diagnósticos, según la OMS[11], de este subtipo de SMD/SMP se enumeran en la tabla 13.14. Se trata de un diagnóstico de exclusión, y posiblemente modificable a medida que avanza el proceso patológico o que estudios genéticos más sofisticados permitan llegar al diagnóstico de un SMD o SMP bien definido.

Se incluyen en este apartado, como entidad provisional, aquellas anemias refractarias con sideroblastos en anillo con plaquetas superiores a 600 × 10^9/L[48-50]. La coexistencia de sideroblastosis anillada superior al 15% y de plaquetas superior a 600 × 10^9/L se registra en más del 15% de las anemias refractarias sideroblásticas, y esta asociación ha sido denominada provisionalmente por la OMS como *anemia refractaria sideroblástica asociada a marcada trombocitosis*, a la espera de que futuros estudios permitan el hallazgo de algún marcador genético específico que permita su exacto encuadre nosológico.

TABLA 13.14

Criterios diagnósticos de los SMD/SMP no clasificables según la OMS

- Presencia de datos morfológicos y de laboratorio de una de las diversas categorías de síndrome mielodisplásico bien establecido, con menos del 20% de blastos en la sangre periférica y en la médula ósea

MÁS

- Rasgos mieloproliferativos prominentes, por ejemplo ≥ 600 × 10^9/L plaquetas asociado con proliferación megacariocítica o recuento leucocitario ≥ 13,0 × 10^9/L con o sin esplenomegalia prominente

MÁS

- Ausencia de un síndrome mielodisplásico o mieloproliferativo crónico previo, ausencia de tratamiento reciente con citostáticos o con factores de crecimiento. Ausencia de cromosoma Philadelphia o del gen de fusión *BCR/ABL*. Ausencia de del(5q), t(3;3)(q21;q26) o inv((3)(q21q26)

O BIEN

- El paciente tiene rasgos mieloproliferativos y mielodisplásicos que no pueden ser asignados a ninguna de las variedades de SMD, de SMP o de SMD/SMP

ANEMIAS DISERITROPOYÉTICAS CONGÉNITAS

Las anemias diseritropoyéticas congénitas (ADC) constituyen la expresión máxima de entidades definidas exclusivamente a través de signos morfológicos diseritropoyéticos que, según sus características, se encasillan en diversas variedades que se describen a continuación.

Clasificación morfológica

Son procesos poco frecuentes que, definidos por alteraciones diseritropoyéticas bastante específicas para cada tipo, se caracterizan por poseer un patrón ferrocinético de eritropoyesis ineficaz. La clasificación morfológica de las ADC se debe a Heimpel y Wendt[51], quienes reconocen tres tipos, si bien posteriormente, se ha aceptado la existencia de una cuarta variedad[52] (tabla 13.15) y de varias formas variantes difíciles de delimitar[53]. Las principales características de las ADC se especifican en la tabla 13.16.

TABLA 13.15

Anemias diseritropoyéticas congénitas. Clasificación morfológica

Tipo I	Cambios megaloblásticos, puentes internucleares, macrocitosis
Tipo II	Binuclearidad y multinuclearidad, mitosis pluripolares, cariorrexis, normocitosis, HEMPAS (+)
Tipo III	Multinuclearidad incluso con más de 12 núcleos, gigantoblastos, macrocitosis
Tipo IV	Afín al tipo II, pero con serología negativa
Variedades intermedias	
Otras	

Anemias diseritropoyéticas congénitas tipo I. El mecanismo básico de la anemia consiste en una eritropoyesis ineficaz, con aborto eritroblástico intramedular, que cursa con un elevado recambio hemoglobínico y con un recuento de reticulocitos apenas aumentado.

El examen de la sangre periférica denota anisocitosis, poiquilocitosis, anisocromía, punteado basófilo y, muy especialmente, macrocitosis y alteraciones megaloblásticas. Es frecuente la presencia de anillos de Cabot, tanto antes de la esplenectomía terapéutica como después de ésta, cuando se realiza.

La celularidad medular está aumentada a expensas de una intensa hiperplasia de la serie eritroblástica, con degeneración macromegaloblástica. La dismorfia más llamativa es la frecuente presencia de puentes internucleares entre dos eritroblastos o entre dos núcleos englobados en un único citoplasma. Estas deformidades no son específicas de esta entidad, ya que, aunque con menor intensidad, pueden aparecer en la eritremia y en la eritroleucemia. Se observa un aumento del número de sideroblastos, así como un notable incremento del hierro macrofágico. Las series granulopoyética y megacariocítica no muestran alteraciones valorables, aunque se ha señalado la presencia de defectos en la segmentación de los polinucleares y megacariocitos morfológicamente anómalos.

Mediante microscopia electrónica[54] se observa ensanchamiento de poros nucleares, con rotura de éstos y penetración de material citoplasmático en el interior del núcleo, y viceversa.

Anemias diseritropoyéticas congénitas tipo II. Es la variedad más frecuente dentro de las ADC; hasta la actualidad se han descrito más de 200 casos. Heimpel et al han seguido 48 pacientes durante 35 años, siendo la sobrecarga férrica la complicación más frecuente[55]. Presenta alteraciones serológicas propias, que consisten en una lisis con suero acidificado normal, pero no con suero del mismo paciente, por lo que se denomina también HEMPAS[56] (siglas del inglés *hereditary erythroblastic multinuclearity associated with a positive acidified-serum test*). Por el contrario, en la hemoglobinuria paroxística nocturna los hematíes son lisados por el propio suero del paciente. Los hematíes son también aglutinados y lisados intensamente por anti-i y anti-I, a diferencia del resto de las ADC.

El análisis de la sangre periférica evidencia normocromía, anisocitosis y poiquilocitosis, con frecuentes hematíes que contienen punteado basófilo.

La médula ósea muestra una celularidad muy aumentada, a expensas de una gran hiperplasia de la serie eritroblástica[9]. Los proeritroblastos y los eritroblastos basófilos son normales, pero el 10-50% de los eritroblastos más maduros poseen dos o más núcleos extraordinariamente picnóticos (fig. 13.7). Con frecuencia se observan imágenes en mórula. Nunca hay gigantismo celular, y se comprueban lobulaciones nucleares y cariorrexis en menor cuantía. Debido al intenso catabolismo celular, pueden observarse células histiocíticas de sobrecarga, observación, por otra parte, común a todos los tipos de ADC. Las series granulopoyética y megacariocítica son normales.

Con microscopia electrónica[54] se aprecia la existencia de una «doble membrana» citoplasmática característica, formada por el retículo endoplasmático residual, que transcurre paralelamente a la membrana celular. Mediante electroforesis en gel de poliacrilamida se advierte una banda 3 más delgada y de más rápida migración. Se han descrito, por otra parte, casos con hallazgos intermedios compatibles con los tipos I y II. Alteraciones en el cromosoma 20(q11.2) han sido descritas en familias del Sur de Italia.

Anemias diseritropoyéticas congénitas tipo III. Es la variante más infrecuente. Morfológicamente, se caracteriza por la presencia en el aspirado medular de eritroblastos multinucleados y gigantes, y por su matiz macrocítico periférico. Estas alteraciones afectan a todas las fases de la eritropoyesis. En el estadio ortocromático, algunos gigantoblastos tienen un

TABLA 13.16

Anemias diseritropoyéticas congénitas (ADC)

Características	Tipo I	Tipo II	Tipo III
Herencia	Autosómica recesiva	Autosómica recesiva	Autosómica dominante
Localización del gen	15q15.1-15.3	20q11.2	15q22
Hematíes	Macrocitos	Normocitos	Macrocitos
Eritroblastos	Megaloblásticos	Normoblásticos	Megaloblásticos
Microscopia óptica y electrónica	Puente internuclear Cromatina en esponja	Binuclearidad, multinuclearidad Picnosis nuclear Doble membrana periférica	Multinuclearidad Gigantismo
Prueba de Ham	Negativo	Positivo	Negativo
Aglutinabilidad anti-i	Negativa	Intensa	Débil

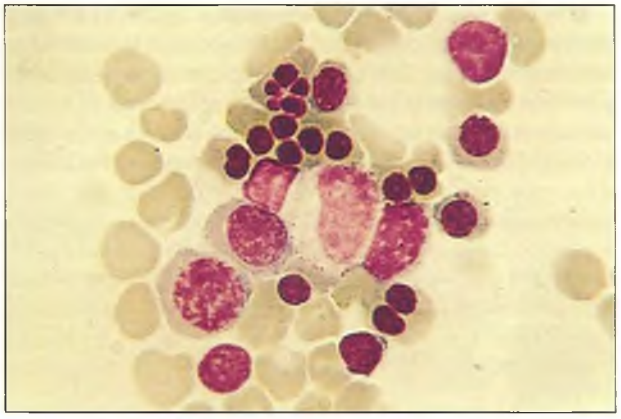


Figura 13.7. Anemia diseritropoyética congénita tipo II. Adviértase la bi y multinuclearidad eritroblástica (May-Grünwald-Giemsa ×1.000).

diámetro que excede los 60 µm. A las anomalías en la talla y el número de los núcleos se asocian alteraciones de la estructura cromatínica que semejan las existentes en el tipo I. El citoplasma de numerosos eritroblastos contiene punteado basófilo y extensas áreas no hemoglobinizadas. Se ha descrito la coincidencia significativa de esta variedad con gammapatías monoclonales, mieloma y también con estrías angioides oculares[57].

Anemias diseritropoyéticas congénitas tipo IV. Definida en 1971[52], su morfología es igual a la del tipo II, pero con serología negativa.

Formas intermedias. Algunos pacientes presentan ADC no adscribibles a las variedades conocidas. La microscopia electrónica está descubriendo, en efecto, nuevas formas intermedias, como algún caso con inclusiones eritroblásticas y eritrocíticas de aspecto vario, y supuestamente atribuibles a síntesis excesiva o degradación insuficiente de las estructuras membranarias. El cuadro clínico es el de la anemia crónica de intensidad variable, que se detecta en la infancia o adolescencia, si bien hay casos que pasan inadvertidos hasta edades avanzadas. También pueden hallarse signos de hemólisis con esplenomegalia moderada, o de hemosiderosis, de cuya intensidad depende, en buena parte, el pronóstico. Con frecuencia se detecta hipocolesterolemia.

Manifestaciones clínicas

Generalmente, la anemia es bien tolerada, rara vez cursa con tasas de hemoglobina inferiores a 7 g/L y se descubre, por lo común, en los primeros años de vida del paciente[58]. Es frecuente el hallazgo de subictericia, que corresponde al aumento de bilirrubina indirecta, secundario a la hemólisis intramedular, así como de calculosis biliar. Junto a la palidez anémica, en fases avanzadas pueden detectarse signos de hemosiderosis debida a la hipersideremia propia de la enfermedad. Al mantenerse indemnes la granulopoyesis y la trombopoyesis, estos pacientes no presentan manifestaciones infecciosas ni hemorrágicas. La esplenomegalia se halla presente casi en la totalidad de estos pacientes. Ocasionalmente y debido a la hemosiderosis acompañante, se detecta también hepatomegalia.

Las ADC presentan una transmisión recesiva en los tipos I y II, y dominante en el tipo III.

El defecto genético se localiza, en los tipos I y III, en el brazo largo del cromosoma 15 (15q, 15.1-15.3 y 15q22, respectivamente) y en el tipo II en el brazo largo del cromosoma 20 (20q11.2).

Diagnóstico y diagnóstico diferencial

El diagnóstico de las ADC se basa en la existencia de una anemia rebelde a toda terapéutica, de inicio generalmente precoz, aunque se han comunicado pacientes cuyo inicio clínico se ha retrasado varias décadas, y que cursa con las deformidades eritroblásticas ya comentadas, junto con un patrón ferrocinético de eritropoyesis ineficaz. Es muy útil la observación de la intensa diseritropoyesis en sangre periférica, con anisocitosis, poiquilocitosis, anillos de Cabot, punteado basófilo y anisocromía, pero las anomalías morfológicas de los eritroblastos medulares previamente citadas son los signos que orientan hacia este diagnóstico.

Debido a la juventud de estos pacientes, a la hiperbilirrubinemia indirecta con la que cursan y a la esplenomegalia que presentan, es fácil que puedan catalogarse erróneamente como afectados de anemia hemolítica crónica no microesferocítica. Sólo la correcta valoración de la morfología diseritropoyética, evidenciable en el mielograma y, a ser posible, el estudio ultraestructural de la eritropoyesis permite efectuar con seguridad el diagnóstico diferencial.

Tratamiento

No existe un tratamiento específico para las ADC. Si se presentan signos de hiperesplenismo, debe administrarse ácido fólico y considerar la práctica de la esplenectomía, cuyo resultado es variable.

Los antianémicos habituales, así como los corticoides, son ineficaces. Hay que evitar las transfusiones, siempre que sea posible, debido al riesgo de aparición precoz de hemosiderosis, a la que tan propensos son estos pacientes. La utilización de desferrioxamina, una vez establecida la complicación, no parece ser de gran utilidad. El tratamiento curativo de las ADC sólo puede conseguirse hoy por hoy mediante el trasplante de médula ósea, modalidad terapéutica ya ensayada en alguna variedad de ADC, aunque en la actualidad las investigaciones se dirigen, al igual que en otros trastornos congénitos, a la ingeniería molecular.

Evolución y pronóstico

Las ADC son, por regla general, bien toleradas, en particular la de tipo III. El tipo II parece mejorar espontáneamente con la aparición de la pubertad.

La mayor complicación a la que abocan casi todos los pacientes es la hemosiderosis, menos frecuente en el tipo III[59].

TRATAMIENTO DE LOS SMD

Consideraciones generales

El tratamiento de los SMD continúa siendo, actualmente, poco eficaz. La escasa respuesta terapéutica viene condicionada por diversos factores, pero probablemente el más importante es la edad del paciente, que limita por ella misma

las posibles opciones de tratamiento. Cabe recordar que en el 75% de pacientes se obtiene el diagnóstico con más de 60 años, y que el 45% tiene más de 70 años.

Los objetivos de cualquier tratamiento de un SMD deberían contemplar: *a*) mejorar la supervivencia; *b*) mejorar la calidad de vida, minimizando la toxicidad de la estrategia seleccionada; *c*) disminuir la progresión a leucemia aguda, y *d*) controlar los síntomas asociados a las citopenias. Después de unos años en los que la valoración de la eficacia de un determinado tratamiento era casi imposible de establecer por la ausencia de un modelo pronóstico internacional consensuado y por la ausencia de criterios estandarizados de respuesta, actualmente ya existentes, el advenimiento del IPSS ha representado un importante avance para evaluar y validar diferentes estrategias terapéuticas en las decisiones de la práctica clínica diaria y en los ensayos clínicos prospectivos. Las tablas 13.17 y 13.18 muestran la supervivencia y el riesgo de evolución a leucemia aguda según el IPSS en función de la puntuación pronóstica y de la edad del paciente.

TABLA 13.17

Supervivencia y riesgo de evolución a leucemia aguda (LA) según el IPSS

	IPSS			
	Bajo	Int-1	Int-2	Alto
Puntuación	0	0,5-1,0	1,5-2,0	≥ 2,5
Evolución a LA	19%	30%	33%	45%
Años (media) LA*	9,4	3,3	1,1	0,2
Supervivencia (años; media)	5,7	3,5	1,2	0,4

*Tiempo en el que el 25% de pacientes desarrollarán leucemia aguda.

TABLA 13.18

Supervivencia en años (mediana) en relación al IPSS y a la edad

	Edad (años)		
Grupo de riesgo	≤ 60	> 60	> 70
Bajo	11,8	4,8	3,9
Int-1	5,2	2,7	2,4
Int-2	1,8	1,1	1,2
Alto	0,3	0,5	0,4

En general, y como parámetros aplicables en la mayoría de neoplasias hematológicas, las posibilidades terapéuticas deben establecerse, básicamente, en función de la edad y del estado general y, concretamente en los SMD, con la categoría de riesgo del IPSS. Se recomienda que el IPSS se calcule en el momento del diagnóstico o cuando el paciente presente un estado clínico estable, sin ninguna complicación infecciosa o de otro tipo que pueda modificar las citopenias basales y adscribir al paciente a una categoría de riesgo que no es la propia. En la medida de lo posible, también es aconsejable abrir un período de espera vigilante después del diagnóstico, con la finalidad de observar la estabilidad de la enfermedad y valorar la necesidad de tratamiento. A continuación, se describen las diversas opciones terapéuticas, de acuerdo con las principales revisiones y guías consensuadas actuales[60-64].

Tratamiento de soporte

La transfusión periódica de concentrados de hematíes constituye el principal tratamiento para una gran mayoría de pacientes. El 80% de los afectados presenta al diagnóstico una hemoglobina inferior a 100 g/L. No existe una cifra de hemoglobina predefinida que indique la necesidad de transfusión, pues la sintomatología anémica y su relación con la concentración de hemoglobina no guardan una relación estrecha, al ser muy variable entre pacientes de la misma edad y diagnóstico. No obstante, la mayoría de pacientes con SMD que presenta una hemoglobina inferior a 80 g/L, requiere transfusión. Siempre debe considerarse la presencia de una morbilidad asociada, como cardiopatía isquémica o insuficiencia renal crónica, que determinarán matices en la actitud transfusional. En los pacientes con necesidades transfusionales mensuales o inferiores al mes, y cuando su perspectiva de vida sea relativamente prolongada, como sucede en la anemia refractaria sideroblástica o el síndrome 5q–, debería valorarse el tratamiento quelante con desferroxamina. La dosis recomendada es de 2 g diarios en infusión subcutánea de 12 horas o 1 g/día s.c. 5 días a la semana. No se recomienda la administración única de una dosis de desferroxamina después de cada transfusión.

La administración de citocinas, como la eritropoyetina (Epo) y los factores estimulantes de colonias granulocíticas (G-CSF) o granulomonocíticas (GM-CSF) son posibles opciones que se pueden considerar en los pacientes que sólo recibirán tratamiento de soporte. La Epo se administra en dosis superiores a 150 U/kg, tres veces por semana o en dosis de 40.000 U, una vez por semana. La probabilidad de respuesta se asocia con concentraciones endógenas de Epo inferiores a 150-200 mU/mL, en pacientes con SMD de bajo riesgo, como la anemia refractaria sideroblástica o la anemia refractaria simple, y con requerimientos transfusionales mensuales inferiores a dos concentrados de hematíes. Un aspecto práctico que se debe tener en cuenta es que la respuesta en algunos pacientes puede ser diferida, hasta 6 meses después de haber iniciado el tratamiento.

Diversos estudios han preconizado la administración simultánea de Epo y G-CSF. Dicha asociación se basa en la sinergia observada *in vitro* del G-CSF, que aumenta el número de BFU-E y su respuesta a la Epo. La dosis de G-CSF recomendada es de 1 µg/kg/día. Los análisis basados en revisiones sistemáticas de estudios clínicos indican que dicha asociación no se halla suficientemente comprobada para recomendarla como práctica clínica bien establecida.

Tratamiento no intensivo

El tratamiento no intensivo contempla muy diversas opciones, atractivas desde un punto de vista conceptual, pues su mecanismo de acción se dirige sobre los posibles mecanismos fisiopatológicos supuestamente implicados en la génesis de los SMD. Por el contrario, los resultados se basan en series con escaso número de pacientes, en ocasiones seleccionados, por lo que son todavía preliminares y necesitan confirmarse. Entre las diversas opciones sometidas a consideración destacan las siguientes:

1. El *danazol* es un andrógeno modificado que potencialmente puede aumentar como otros andrógenos la eritropoyesis y además inhibe la producción de IL-1β y del factor de necrosis tumoral (TNF). En la actualidad, ya no se recomienda en el tratamiento de la anemia de los SMD y sí, en cambio, en pacientes con trombocitopenia inferior a 50×10^9/L, en dosis de 600 mg/día, con control mensual de la función hepática. Si después de 4 meses no se observa un aumento significativo de la cifra de plaquetas, debe considerarse inefectivo.
2. El *tratamiento inmunosupresor* contempla la globulina antitimocítica y la ciclosporina A, y se fundamenta en la posible inmunosupresión mediada por linfocitos T observada en algunos pacientes. Los inmunosupresores parecen ser más efectivos en aquellos pacientes con componente hipoplásico, en pacientes con clona HPN positiva (marcador de fallo medular inmune) o en aquellos con el haplotipo HLA-DRB1-15, por haberse observado mayor respuesta a la globulina antitimocítica en dichos pacientes. La Sociedad Italiana de Hematología, en sus guías sobre el tratamiento de los SMD[3] recomienda el tratamiento inmunosupresor en pacientes con un IPSS bajo o intermedio 1 que no son candidatos a TPH o a quimioterapia tipo leucemia aguda. La ciclosporina A se administra en dosis de 5-6 mg/kg/día en dos dosis, debiéndose alcanzar concentraciones sanguíneas de 100 a 300 ng/mL.
3. El *imatinib* puede tener un papel en los pacientes con leucemia mielomonocítica crónica que muestren la t(5;12) (q33;p13) con el gen de fusión del receptor β del factor de crecimiento derivado de plaquetas (*PDGFRβ*).
4. Existen diversos fármacos con potencial acción sobre el microambiente hematopoyético. Entre ellos, cabe mencionar los que actúan por mecanismo antiangiogénico y los que poseen acción anticitocina. En los SMD se ha demostrado que el factor-A promotor del crecimiento vascular endotelial (VEGF-A) aumenta la neovascularización y también actúa estimulando la expansión clonal de los mieloblastos que poseen receptores para dicho factor y la hematopoyesis ineficaz de los progenitores más inmaduros[1]. La *talidomida* presenta propiedades antiangiogénicas y de inhibición del factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α). Puede constituir una opción en pacientes jóvenes de bajo riesgo, con dependencia transfusional y concentraciones basales de Epo elevadas, y por tanto, no candidatos a tratamiento con Epo. El 20-25% de pacientes pueden responder en un plazo de 4 a 12 semanas. No constituye una opción viable en los pacientes de edad avanzada, por su mala tolerancia, incluso en dosis bajas. Un análogo de la talidomida, *lenalidomida* (CC-5013, Revlimid®) que carece de la toxicidad neurológica de la anterior, parece prometedor, sobre todo en pacientes con deleción de 5q31.1, en los que consigue, aparte de respuestas favorables en la anemia, respuestas citogenéticas valorables[1].

   La posible acción contra el TNF-α también se ha explorado con su receptor soluble el *etanercept*, y con el anticuerpo quimérico anti-TNF, *infliximab*. Se están llevando a cabo estudios que analizarán la efectividad de estos agentes en combinación con anticuerpos anti-CD33 conjugados a calicheamicina o con otros fármacos inmunomoduladores. La *amifostina* (Ethyol®) es un antioxidante y estimulador *in vitro* de la actividad hematopoyética que no parece haber cumplido las expectativas iniciales de una posible acción favorable. El *trióxido de arsénico* parece suprimir la síntesis de VEGF-A por los mieloblastos, y presenta acción citotóxica sobre el endotelio neovascular. Su actividad como único fármaco parece modesta y se está investigando en tratamientos combinados.
5. Las dosis bajas de *citarabina* por vía subcutánea, que en su momento tuvieron un cierto predicamento, ya no se consideran un tratamiento valorable en los SMD, por su escaso porcentaje de respuestas y su intensa mielodepresión.
6. La hipermetilación de los genes involucrados en la regulación del ciclo celular se considera un mecanismo importante de la carcinogénesis. La inhibición de la metiltransferasa del DNA puede restablecer el estado normal de metilación de diversos genes supresores de tumores y restaurar la diferenciación de la clona anormal. La *azacitidina* y su análogo la 5-aza2'-deoxicitidina han sido utilizados en estudios clínicos terapéuticos en los SMD. De hecho, la azacitidina, aparte de su acción hipometilante, también posee acción citotóxica. Ha sido aprobada en Estados Unidos por la FDA en 2004 para el tratamiento de la anemia refractaria y la anemia refractaria sideroblástica con neutropenia o trombocitopenia o requerimientos transfusionales, así como en la AREB, AREBT y LMMC. La dosis recomendada es de 75 mg/m^2/día por vía subcutánea, durante 7 días y cada 28 días. En un estudio en que se comparó con tratamiento de soporte, consiguió una mejoría de la calidad de vida y un intervalo más prolongado de transformación a leucemia aguda, con mielodepresión aceptable. Se desconoce todavía si puede mejorar la supervivencia.
7. Los *inhibidores de la farnesiltransferasa*, como el *tipifarnib* y el *lonafarnib*, representan otra estrategia terapéutica basada en la inhibición de la proliferación celular por su acción sobre el protooncogén *RAS*, que juega un papel fundamental en las señales de transducción, proliferación y mantenimiento del fenotipo maligno. Las mutaciones de *RAS* se detectan en menos del 20% de pacientes con SMD, siendo más frecuentes en la LMMC[1]. El tipifarnib (Zarnestra®) se administra por vía oral, y ha conseguido el 20-40% de respuestas en pacientes con SMD de alto riesgo, independientemente incluso del estado de mutación de *RAS*. Su eficacia debe confirmarse, por si pudiese constituir un tratamiento activo en pacientes de edad avanzada e IPSS de alto riesgo.
8. Otros fármacos en estudio y con un mecanismo de acción selectivo son los inhibidores de FLT3 y los inhibidores de la deacetilasa histona, como el fenilbutirato, que actúan como potentes inductores de la diferenciación celular. Los resultados obtenidos son todavía demasiado preliminares.

Tratamiento intensivo

Quimioterapia

La quimioterapia intensiva tipo leucemia aguda consigue remisiones en el 40-60% de pacientes. No obstante, la duración de la remisión completa es corta, con menos del 10% de pacientes vivos y libres de enfermedad a los 2 años. Los fármacos utilizados suelen ser la citarabina combinada con antraciclinas y fludarabina, en regímenes como FLAG o FLAG-idarrubicina. Este tipo de tratamiento se recomienda para pacientes no candidatos a TPH que tienen menos de 55 años y un IPSS intermedio 2 o alto. Asimismo, los pacientes entre 55 y 65 años con las mismas puntuaciones citadas y un buen estado general también podrían ser candidatos a este tipo de quimioterapia[3].

Trasplante de progenitores hematopoyéticos

El TPH alogénico constituye la única opción con potencial curativo en los SMD. Los pacientes con un donante HLA idéntico presentan una supervivencia libre de enfermedad del 30-40%, con una tasa de recaídas del 23-48% y una mortalidad relacionada con el tratamiento del 37-50%[1]. En una actualización del Registro Internacional de Médula Ósea sobre 452 pacientes con TPH alogénico de hermano idéntico, la supervivencia a los 3 años fue del 42%, con una supervivencia libre de enfermedad, recaída y mortalidad relacionada con el trasplante del 40, 23 y 37%, respectivamente. La supervivencia fue más favorable entre los pacientes jóvenes y los que presentaban cifras de plaquetas superiores a 100×10^9/L. Las recidivas fueron más frecuentes en pacientes con un número alto de blastos al diagnóstico o en el momento del trasplante, IPSS altos y trasplantes con depleción de linfocitos T[65].

La mortalidad relacionada con el tratamiento ha mejorado en los últimos años gracias al tratamiento de soporte y a una selección más individualizada de los factores de riesgo pretrasplante, como ha referido el grupo de Seattle al ajustar las dosis de acondicionamiento de busulfán para conseguir unas concentraciones sanguíneas de 600-900 ng/mL en pacientes entre 55 y 66 años. La fuente de progenitores de sangre periférica parece reducir la duración de la neutropenia y trombocitopenia postrasplante cuando se compara con los progenitores obtenidos de médula ósea, aunque se observa más incidencia de enfermedad del injerto contra el huésped crónica. Se desconoce si la quimioterapia pretrasplante como método de disminución de la «carga tumoral» es beneficiosa o no añade beneficio al TPH que se realiza sin quimioterapia previa. Su utilización parece lógica en los pacientes con IPSS de riesgo alto.

Un intervalo de tiempo prolongado entre el diagnóstico y el trasplante se asocia con un peor resultado del mismo, por lo que parece lógico efectuar el trasplante poco tiempo después del diagnóstico. No obstante, la recomendación más reciente es diferir el TPH en pacientes con IPSS bajo o intermedio 1, sin citopenias graves o alteraciones citogenéticas, y practicarlo cuando el paciente presente una citopenia clínicamente importante, adquiera una anomalía citogenética o progrese en la estratificación de grupo de riesgo. Debe recordarse que aunque los pacientes de menos de 60 años con IPSS bajo e intermedio 1 son los que responden mejor con TPH alogénico, tienen una mortalidad relacionada con el trasplante del 40% y una supervivencia global del 40-60% a los 5 años, frente a una supervivencia de 5 a 12 años con tratamiento de soporte.

El TPH de intensidad reducida (TIR) ha sido considerado como una posible estrategia para minimizar la mortalidad y complicaciones agudas del TPH relacionadas con el régimen mieloablativo. Se ha evidenciado un efecto injerto contra leucemia con los TIR que reduce el riesgo de recaída en leucemia aguda y SMD[66]. Los resultados de estudios clínicos comparativos entre el TIR y el TPH convencional ofrecerán respuestas a cuál es la mejor estrategia que se debe seguir en el próximo futuro. El TPH de donante no emparentado presenta una mortalidad mayor que el TPH de donante HLA-idéntico estrechamente relacionada con la edad del paciente, con una supervivencia libre de enfermedad globalmente inferior.

El TPH autógeno puede ser una alternativa en los pacientes candidatos a TPH que no disponen de un donante compatible. Es indispensable conseguir una remisión completa con los esquemas de quimioterapia tipo leucemia aguda previa al TPH autógeno.

En síntesis, todavía no se pueden hacer recomendaciones categóricas en las indicaciones y tipo idóneo de TPH en los SMD. En los pacientes de menos de 60 años con IPSS bajo o intermedio 1 y donante compatible se puede diferir el trasplante, como se ha comentado, hasta que aparezcan signos de progresión de la enfermedad. En este grupo de edad, el TPH estaría indicado como primera opción terapéutica en los pacientes con IPSS intermedio 2 o alto, con buen estado general y donante HLA-idéntico. Los pacientes de más de 60 años con buen ECOG e IPSS bajo o intermedio 1 deberían recibir tratamiento no intensivo, incluyéndose en ensayos clínicos con nuevos fármacos, o bien tratamiento de soporte. En el mismo segmento de edad pero con IPSS intermedio 2 o alto, la edad y el estado general deben condicionar siempre la estrategia terapéutica. Los pacientes con donante no emparentado de menos de 40 años son candidatos a TPH mieloablativo, y los de más de 40 años, a TIR en ensayos clínicos prospectivos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bennet JM, Catovsky D, Daniel MT et al. Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. French-American-British (FAB) Cooperative Group. Br J Haematol 1982; 51:189-199.
2. Lewis SM, Verwilghen RL. Dyserytropoiesis and dyserythropoietic anaemia. Br J Haematol 1972; 23:1-4.
3. Sans-Sabrafen J, Woessner S. Delimitación del concepto, nosología y clasificación de los síndromes mielodisplásicos. Sangre (Barc) 1985; 30:633-637.
4. Björkman SE. Chronic refractary anemia with sideroblastic bone marrow. A study of four cases. Blood 1956; 11:250-259.
5. Dreyfus B, Rochant H, Sultan C et al. Les anémies refractaires avec excés de myeloblastes dans la moelle. Étude d'onze observations. Nouv Presse Med 1970; 78:359-364.
6. Bennet JM, Catovsky D, Daniel MT et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) Cooperative Group. Br J Haematol 1976; 33:451-458.
7. Saarni MI, Linman JW. Preleukemia. The hematologic syndrome preceding acute leukemia. Am J Med 1973; 55:38-48.
8. Levine EG, Bloomfield CD. Leukemias and myelodysplastic syndromes secondary to drug, radiation and environmental exposure. Semin Oncol 1992; 19:47-84.
9. Woessner S, Lafuente R, Florensa L. La citología óptica en el diagnóstico hematológico, 4.ª ed. Barcelona: FEHH, 2000.
10. Sans-Sabrafen J, Buxó Costa J, Woessner S et al. Síndrome mielodisplásico. Estudio clínico de 124 casos y revisión de la literatura. Med Clin (Barc) 1988; 91:481-487.
11. WHO Tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Press, 2001.
12. Van den Berghe H. Distinct haematological disorder with deletion of long arm of no. 5 chromosome. Nature 1974; 251:437.
13. Nowell PC. Chromosome abnormalities in myelodysplastic syndromes. Semin Oncol 1992; 19:25-33.
14. Solé F, Espinet B, Sanz GF et al. Incidence, characterization and prognostic significance of chromosomal abnormalities in 640 patients with primary myelodysplastic sindromes. Grupo Cooperativo Español de Citogenética Hematológica. Br J Haematol 2000; 108:346-356.
15. Mathew P, Tefferi A, Dewald GW et al. The 5q- syndrome. A single-institution study of 43 consecutive patients. Blood 1993; 81:1040-1045.
16. Tricot GJ. Prognostic factors in the myelodysplastic syndromes. Leukemia Res 1992; 16:109-115.
17. Florensa Brichs L. Cultivo *in vitro* de células progenitoras granulomonocíticas de médula ósea en los síndromes mielodisplásicos. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona, 1986.
18. Gatterman N, Aul C, Schneider W. Two types of acquired idiopathic sideroblastic anaemia (AISA). Br J Haematol 1990; 74:45-52.

19. Rosati S, Mick R, Xu F et al. Refractory cytopenia with multilineage dysplasia: further characterization of an inclassifiable myelodysplastic syndrome. Leukemia 1996; 10:20-26.
20. Sans-Sabrafen J, Buxó J, Woessner S et al. Refractory anaemia with excess of blasts: report of ten cases with a long survival. Biol Clin Hematol 1989; 11:153-155.
21. Tuzuner N, Cox C, Rowe JM, Watrous D, Bennet JM. Hypocellular myelodysplastic syndromes (MDS): new proposals. Br J Haematol 1995; 91:612-617.
22. Foucar K. Bone marrow pathology. En: Myelodysplastic syndromes, 2.ª ed. Chicago: ASCP Press 2001; 12:224-261.
23. Lambertenghi-Deliliers G, Orazi A, Luksch R, Annaloro C, Soligo D. Myelodysplastic syndrome with increased marrow fibrosis: a distinct clinico-pathological entity. Br J Haematol 1991; 78:161-166.
24. Watts EJ, Majer RV, Green PJ, Mavor WO. Hyperfibrotic myelodysplasia: a report of three cases showing haematological remission following treatment with prednisolone. Br J Haematol 1991; 78:120-122.
25. Lai JL, Preudhomme C, Zandecki M et al. Myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia with 17p deletion. An entity characterized by specific dysgranulopoiesis and a high incidence of P53 mutations. Leukemia 1995; 9:370-381.
26. Grigg AP, Gascoyne RD, Phillips GL, Horsman DE. Clinical, haematological and cytogenetic features in 24 patients with structural rearrangements of the Q arm of chromosome 3. Br J Haematol 1993; 83:158-165.
27. Sanz GF, Sanz MA, Greenberg PL. Prognostic factors and scoring systems in myelodysplastic syndromes. Haematologica 1998; 83:358-368.
28. Campbell LJ, Garson OM. The prognostic significance of deletion of the long arm of chromosome 20 in myeloid disorders. Leukemia 1994; 8:67-71.
29. Passmore SJ, Chessells JM, Kempsky H, Hann IM, Brownbill PA, Stiller CA. Paediatric myelodysplastic syndromes and juvenile myelomonocytic leukaemia in the UK: a population-based study of incidence and survival. Br J Haematol 2003; 121:758-767.
30. Vallespí T, Imbert M, Mecucci C, Preudhomme C, Fenaux P. Diagnosis, classification and cytogenetics of myelodysplastic syndromes. Haematologica 1998; 83:258-275.
31. Neuwirtova R, Mocikova K, Musilova J et al. Mixed myelodysplastic and myeloproliferative syndromes. Leuk Res 1996; 20:717-726.
32. Najean Y, Lecompte T. Chronic pure thrombocytopenia in elderly patients. Cancer 1986; 64:2506-2510.
33. Hamblin T. Minimal diagnostic criteria for the myelodysplastic syndrome in clinical practice. Leuk Res 1992; 16:3.
34. Culligan DJ, Jacobs A. Minimal diagnostic criteria for the myelodysplastic syndrome. Leuk Res 1992; 16:4-5.
35. Buxó Costa J. Aportacions a l'estudi de la síndrome mielodisplàstica. Tesi doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona, 1992.
36. Sans-Sabrafen J, Buxó J, Woessner S et al. Anemia refractaria adquirida y neoplasia. Estudio de 11 casos. Med Clin (Barc) 1984; 83:489-491.
37. Sans-Sabrafen J, Buxó J, Woessner S et al. Myelodysplastic syndromes and malignant solid tumors: analysis of 21 cases. Am J Hematol 1992; 41:1-4.
38. Copplestone JA, Mufti GJ, Hamblin TL, Oscier DG. Immunological abnormalities in myelodysplastic syndromes. II. Coexistent lymphoid or plasma cell neoplasms: a report of 20 cases unrelated to chemotherapy. Br J Haematol 1986; 63:149-159.
39. Hamblin TJ. Immunological abnormalities in myelodysplastic syndromes. En: Mufti GJ, Galton DAG, eds. The myelodysplastic syndromes. Edimburgo: Churchill Livingstone, 1992.
40. Mufti GJ, Stevens JE, Oscier DG et al. Myelodysplastic syndromes: a scoring system with prognostic significance. Br J Haematol 1985; 59:425-433.
41. Sanz GF, Sanz MA, Vallespí T et al. Two regression models and a scoring system for predicting survival and planning treatment in myelodisplastic syndromes: a multivariate analysis of prognostic factors in 370 patients. Blood 1984; 74:395-408.
42. Sans-Sabrafen J, Woessner S, Besses C et al. Association of chronic myelomonocytic leukemia and carcinoma: a possible paraneoplastic myelodysplasia. Am J Hematol 1986; 22:109-110.
43. Germing U, Gattermann N, Minning H, Heyll A, Aul C. Problems in the classification of CMML-dysplastic versus proliferative type. Leuk Res 1998; 22:871-878.
44. Breccia M, Latagliata R, Mengarelli A, Biondo F, Mandelli F, Alimena G. Prognostic factors in myelodysplastic and myeloproliferative types of chronic myelomonocytic leukemia: a retrospective analysis of 83 patients from a single institution. Haematologica 2004; 89:866-868.
45. Hernández JM, Del Cañizo MC, Cuneo A et al. Clinical, hematological and cytogenetic characteristics of atypical chronic myeloid leukemia. Ann Oncol 2000; 11:441-444.
46. Arico M, Biondi A, Pui CH. Juvenile myelomonocytic leukemia. Blood 1997; 90:479-488.
47. Ghang YH, Jou ST, Lin DT, Lu MY, Lin KH. Differentiating juvenile myelomonocytic leukemia from chronic myeloid leukemia in childhood. J Pediatr Hematol Oncol 2004; 26:236-242.
48. Gupta R, Abdalla SH, Bain B. Thrombocytosis with sideroblastic erythropoiesis: a mixed myeloproliferative myelodysplastic syndrome. Leuk Lymphoma 1999; 34:615-619.
49. Pérez Sánchez I, Pérez Corrala A, Menárguez Palanca J, Mayayo Crespo M, Escudero Soto A, Pintado Cros T. Sideroblastic anaemia with reactive thrombocytosis versus myelodyplastic/myeloproliferative disease. Leuk Lymphoma 2003; 44:557-559.
50. Schmitt-Graeff A, Thiele J, Zud I, Kvasnicka HM. Essential thrombocythemia with ringed sideroblasts: a heterogeneous spectrum of diseases, but not a distinct entity. Haematologica 2002; 87:392-399.
51. Heimpel H, Wendt F. Congenital dyserythropoietic anemia with karyorrexis and multinuclearity of erythroblasts. Hel Med Acta 1968; 34:103-115.
52. McBride JA, Wilson WE, Baillie N. Congenital dyserythropoietic anaemia-Type IV. Blood 1971; 38:837-841.
53. Woessner S, Trujillo M, Florensa L, Mesa MC, Wickramasinghe SN. Congenital dyserythropoietic anaemia other than type I to III with a peculiar erythroblastic morphology. Eur J Haematol 2003; 71:211-214.
54. Rozman C, Woessner S, Feliu E, Lafuente R, Berga LI. Cell ultrastructure for hematologists. Barcelona: Doyma, 1993; 1:39-49.
55. Heimpel H, Anselstetter V, Chrobak L, et al. Congenital dyserythropoietic anemia type II: epidemiology, clinical appearance, and prognosis based on long-term observation. Blood 2003; 102:4576-4581.
56. Verwilghen RL, Lewis SM, Dacie JV et al. HEMPAS: Congenital dyserythropoietic anaemia (type II). Q J Med 1973; 42:257-278.
57. Sandström H, Wahlin A. Congenital dyserythropoietic anemia type III. Haematologica 2000; 85:753-757.
58. Wickramasinghe, SN. Congenital dyserythropoietic anaemias: clinical features, haematological morphology and new biochemical data. Blood Rev 1998; 12:178-200.
59. Iolascon A. Congenital dyserythropoietic anaemias: a still unsolved puzzle. Haematologica 2000; 85:673-674.
60. List AF, Vardiman J, Issa J-P J, DeWitte TM. Myelodysplastic síndromes. Hematology 2004. ASH. Educational Book: 297-317.
61. Bowen D, Culligan D, Jowitt S et al. UK MDS Guidelines Group. Guidelines for the diagnosis and therapy of adult myelodysplastic syndromes. Br J Haematol 2003; 120:187-200.
62. Alessandrino EP, Amadori S, Barosi G et al. Evidence- and consensus-based practice guidelines for the therapy of primary myelodysplastic syndromes. A statement from the Italian Society of Hematology. Haematologica 2002; 87:1286-1306.
63. Fenaux P. Myelodysplastic syndromes: from pathogenesis and prognosis to treatment. Semin Hematol 2004; 41(Suppl 4):6-12.
64. Rowe JM. State of the science for myelodysplastic syndrome: prognosis and promise of new therapies. Best Pract Res Clin Haematol 2004; 17:535-541.
65. Sierra J, Pérez WS, Rozman C et al. Bone marrow transplantation from HLA-identical siblings as treatment for myelodysplasia. Blood 2002; 200:1997-2004.
66. Martino R, Caballero MD, Simon JA et al. Evidence for a graft-versus-leukemia effect after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning in acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndromes. Blood 2002; 100:2243-2245.

CAPÍTULO 14

Aplasia medular. Eritroblastopenias. Amegacariocitosis

P. Marín

ÍNDICE

Aplasia medular
Aplasia medular adquirida
Incidencia y epidemiología
Etiología
Fisiopatología
Manifestaciones clínicas
Pruebas complementarias
Diagnóstico y diagnóstico diferencial
Evolución y pronóstico
Profilaxis
Tratamiento
Fracasos a la primera línea de tratamiento inmunosupresor y recaídas
Fallos en la segunda línea de tratamiento inmunosupresor
Aplasias congénitas o constitucionales
Anemia de Fanconi
Otras aplasias congénitas
Eritroblastopenias
Eritroblastopenia congénita de Blackfand-Diamond
Eritroblastopenia adquirida
Amegacariocitosis
Trombocitopenia amegacariocítica congénita
Trombocitopenia amegacariocítica adquirida
Bibliografía

La hematopoyesis es un sistema dinámico de maduración celular por el que una cantidad de 10^8 progenitores es capaz de producir y mantener, de forma constante, diaria y durante toda la existencia del individuo, un total de 10^{12} elementos circulantes en la sangre periférica, con una función especializada. Cada día se consumen alrededor del 0,8% de los hematíes, el 10% de las plaquetas y el 230% de los neutrófilos contenidos en el volumen total de sangre de un adulto. El mantenimiento de este sistema y su regulación se realiza mediante un complejo sistema de mediadores (citocinas) producidos por algunas de las células hemáticas (linfocitos, monocitos) y de la estroma.

El fracaso de la función hematopoyética se denomina *insuficiencia medular*, y su efecto es la reposición inadecuada de los elementos sanguíneos consumidos, generando anemia, leucopenia y trombocitopenia. Desde el punto de vista morfológico y funcional cabe distinguir dos grandes grupos de insuficiencias medulares: las cuantitativas y las cualitativas. La *insuficiencia medular cuantitativa* (*aplasia medular*) se caracteriza por la gran disminución o desaparición total de las células hematopoyéticas debida a que las células progenitoras pluripotenciales pierden su capacidad de autorrenovación y/o diferenciación hacia elementos más maduros. En la *insuficiencia medular cualitativa*, en cambio, la celularidad medular es cuantitativamente normal, pero está cualitativamente alterada y, por esta razón, es incapaz de verter un suficiente número de elementos formes hacia la sangre periférica. Se trata de la *insuficiencia medular con médula rica* o *displasia medular*. En cada uno de los citados grupos cabe distinguir, a su vez, formas *globales* –que afectan a las tres series hematopoyéticas– y formas *parciales* o *selectivas*, que se centran en una sola de las citadas líneas celulares. En el presente capítulo se tratan las formas cuantitativas o aplasias, tanto globales como parciales. La mayor parte está dedicada a la aplasia medular adquirida. También nos ocuparemos de las aplasias congénitas o constitucionales, así como de las eritroblastopenias y trombocitopenias amegacariocíticas.

APLASIA MEDULAR

El término *aplasia medular* se aplica a la insuficiencia medular global de tipo cuantitativo, con desaparición de los precursores hematopoyéticos y la consiguiente disminución de los elementos formes en la sangre circulante o *pancitopenia*: anemia, leucopenia y trombocitopenia. La descripción de este proceso se atribuye a Paul Ehrlich quien, en 1888, al referir los datos necrópsicos de una mujer de 21 años, gestante, fallecida con una profunda anemia y neutropenia, observó, por primera vez, el aspecto graso de su médula ósea. El desarrollo de métodos de diagnóstico como el mielograma, la biopsia medular, la citofluorimetría y las nuevas técnicas de imagen han permitido diferenciar este cuadro clínico de otras patologías como la mielofibrosis, anemias refractarias, infiltraciones neoplásicas y la hemoglobinuria paroxística nocturna.

El fracaso hematopoyético puede ser *congénito* o *adquirido*.

Aplasia medular adquirida

Incidencia y epidemiología

La aplasia medular adquirida es una enfermedad poco frecuente en los países desarrollados occidentales. En un amplio estudio[1], realizado mediante el método caso-control sobre una población de 20 millones de personas, habitantes de Ulm, Barcelona, Israel, Milán, Budapest, Sofía y Estocolmo/Uppsala, la incidencia era inferior a 3 casos nuevos por año y millón de habitantes. La cifra difiere de la observada en países de Extremo Oriente[2]. Estas diferencias pueden deberse a la presencia de factores etiológicos diferenciados en los dos tipos de sociedades. La enfermedad aparece en cualquier edad y de forma similar en ambos sexos. En el Hospital Clínic de Barcelona hemos podido observar la existencia de una mayor incidencia en varones jóvenes de entre 15 y 25 años, sin que se haya podido identificar un agente causal, y en personas mayores de 55 años, coincidiendo con una elevada frecuencia de tratamientos antiinflamatorios y analgésicos. Estos datos también han sido observados por otros hospitales europeos.

Etiología

En la tabla 14.1 se detallan algunas de las causas que pueden generar la enfermedad. Existen múltiples listas de agentes etiológicos, pero son escasos los estudios realizados con métodos epidemiológicos adecuados. Cuando no puede aventurarse una presunción etiológica se designa la aplasia medular adquirida como *idiopática* y corresponde, en nuestro medio, al 70% de los casos diagnosticados.

TABLA 14.1

Clasificación etiológica de la aplasia medular adquirida

Aplasia medular idiopática
Aplasia medular secundaria
Radiaciones ionizantes
Medicamentos
Citostáticos
Cloranfenicol
Antiinflamatorios no esteroideos
Anticomiciales
Sales de oro
Otros
Benceno y otros tóxicos industriales
Insecticidas
Virus
Epstein-Barr (mononucleosis infecciosa)
Hepatitis B, C y otros no identificados
Parvovirus B19
Citomegalovirus
Virus de la inmunodeficiencia humana
Enfermedades autoinmunes
Fascitis eosinofílica
Hipoinmunoglobulinemia
Timoma
Lupus
Enfermedad del injerto contra el huésped
Gestación

Radiaciones ionizantes

Producen un efecto obligado y no aleatorio como sucede con otros agentes etiológicos. La energía absorbida genera iones, peróxidos y radicales libres que atacan preferentemente las macromoléculas como el DNA, sobre todo en los tejidos con gran actividad mitótica como es el caso de los progenitores hematopoyéticos. Cualquier dosis de radiación disminuye la reserva de progenitores, y su acumulación puede producir descensos lentos de las cifras de células hemáticas, como se ha observado en profesionales de la radiología, enfermos de espondilitis anquilopoyética tratados con radioterapia, enfermos tratados con torio o radio y en pintores de esferas luminosas. La forma aguda se presenta tras la exposición supraletal de una irradiación corporal total superior a 10 Sv (equivalente a 10 Gy para radiaciones gamma, beta y rayos X, y a 1 Gy para neutrones más potentes y radiaciones alfa).

Medicamentos

Algunos *citostáticos*, como los que actúan sobre el DNA de forma directa (alquilantes) o interfiriendo su síntesis (antipurínicos, antipirimidínicos o sus análogos), inducen un fenómeno similar al descrito para las radiaciones al reducir la reserva de progenitores en cada administración. Algunos medicamentos pueden actuar por idiosincrasia, como sucede con el cloranfenicol, la fenilbutazona y las sales de oro, además de hacerlo por la vía de la acumulación de dosis. La regulación del empleo de algunos medicamentos, como el cloranfenicol, claramente implicados en la etiología de la enfermedad, ha reducido la implicación de este tipo de agentes. La detección continua del efecto aplasiante de los nuevos medicamentos es una labor necesaria para reducir la incidencia. En la actualidad, los productos más implicados son los antirreumáticos (fenilbutazona, ibuprofeno, indometacina y sulindaco), sales de oro, anticonvulsivantes, antipalúdicos de síntesis, tirostáticos y la D-penicilamina.

Benzol y otros tóxicos industriales

El *benzol* es la sustancia química cuya relación causal con la aplasia medular se ha establecido de modo más convincente, mediante datos clínicos, epidemiológicos y experimentales. La mielotoxicidad benzólica ocupa un lugar intermedio entre el efecto acumulativo y el mecanismo idiosincrásico. La exposición a este tóxico puede producirse en industrias de variada naturaleza (pinturas, barnices, colas, caucho, tintas,

piel y zapatos, lavado en seco, etc.), pero también por uso doméstico indiscriminado como disolvente. Las gasolinas suelen contener una pequeña proporción de benzol, con lo cual los trabajadores de las estaciones distribuidoras pueden sufrir una exposición crónica. Desde que el empleo industrial está mejor controlado, la incidencia de la aplasia benzólica se ha reducido de modo notable.

El benzol se concentra en el tejido adiposo de la médula ósea, donde directamente o por medio de los metabolitos inhibe la síntesis del DNA. Aparte de la aplasia, el benzol es capaz de causar otras hemopatías malignas.

Las legislaciones de diversos países autorizan una exposición benzólica en concentraciones oscilantes entre 3 y 25 ppm, y recomiendan su sustitución por otros productos menos tóxicos. Un 3-4% de trabajadores expuestos a concentraciones superiores a 300 ppm sufrirán aplasia medular. La exposición a concentraciones superiores a 100 ppm puede causar un cierto grado de citopenia en el 50% de sujetos.

Aunque sin demostración convincente, se han implicado en la etiología de la aplasia medular otros hidrocarburos aromáticos (tolueno, xileno) e insecticidas.

Virus

La aplasia medular se ha relacionado etiológicamente con infecciones virales. La *hepatitis viral* puede provocar una aplasia grave, de predominio en varones jóvenes, en el momento de la resolución del cuadro hepático. En el mundo desarrollado no se ha identificado un virus de hepatitis particularmente relacionado. En un estudio epidemiológico realizado en Tailandia se localizó un grupo social (agricultores con escasas condiciones higiénicas) de alta prevalencia del virus de la hepatitis B (VHB) y mayor incidencia de aplasia medular en comparación al grupo control de la misma zona geográfica. La relación del insulto de un virus de hepatitis y la aplasia queda demostrada por la aparición de casos de fallo hematopoyético en los receptores de un hígado por hepatitis fulminante a los dos meses del trasplante ortotópico. Los pacientes con aplasia medular que se recuperan después de un tratamiento inmunosupresor tienen una prevalencia alta del virus C de la hepatitis (VHC); sin embargo, su posible relación es cuestionable debido al elevado requerimiento transfusional que precisan durante el tratamiento.

Otras afecciones virales que pueden causar mielodepresión son las ocasionadas por el virus de Epstein-Barr o VEB (mononucleosis infecciosa), citomegalovirus y virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). El parvovirus B-19 es responsable de eritroblastopenias puras.

Trastornos inmunológicos

Se han descrito raros casos de aplasia medular asociada con timoma o hipogammaglobulinemia. La fascitis eosinofílica, un tipo de colagenosis poco frecuente y parecida a la esclerodermia generalizada, se asocia con insuficiencia medular en un 10% de los casos. La enfermedad del injerto contra el huésped, complicación del trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, va acompañada frecuentemente de depresión hematopoyética, aunque rara vez de auténtica aplasia.

Embarazo

La existencia de aplasia medular gravídica es discutible para algunos autores, y es probable que en determinados casos se trate de una simple coincidencia. No obstante, la observación de aplasias que se repiten en varios embarazos y se resuelven tras los respectivos partos o abortos, aboga por su realidad[3,4]. Aún así, un reciente estudio de ámbito europeo demuestra que las mujeres que se recuperan de una aplasia medular no coincidente con una gestación, no presentan riesgo de recidiva en caso de nuevo embarazo, siempre que la recuperación no vaya acompañada de la presencia de hemoglobinuria paroxística nocturna[5].

Fisiopatología

El hecho universalmente reconocido es la *reducción de la cantidad de progenitores hematopoyéticos* a un nivel que no permite la reconstitución funcional, y/o la presencia de *anormalidades de algunos componentes que regulan esta función desde el microambiente medular*. La forma en que sucede esta reducción es diversa. La lesión tóxica directa puede ser una de ellas, sin embargo hay datos que sugieren la presencia de una destrucción celular o de disregulación funcional de mecanismo inmune. Por el momento, no se han identificado los antígenos responsables de la reactividad inmunológica pero, al parecer, determinados péptidos virales pueden servir de activadores de las reacciones contra los progenitores celulares y su estroma de soporte. Otras proteínas virales, también pueden tener la capacidad de alterar la expresión de ciertos genes y así alterar la regulación de la hematopoyesis.

La presencia de *fenómenos inmunológicos* que afectan a las células sanguíneas circulantes es un hecho conocido desde hace muchos años. También se ha reconocido el concepto de *mielopatía autoinmune* para definir los procesos de supresión inmunológica contra la médula ósea, como es el caso de la supresión de una sola línea hematopoyética con la eritroblastopenia y la amegacariocitosis adquiridas, como ejemplos. La demostración de que los progenitores hematopoyéticos más inmaduros pueden ser un objetivo similar es más complicado. Salvo en algunos casos de aplasia asociada a lupus eritematoso sistémico (LES), no se ha podido detectar la producción de anticuerpos ni alteraciones de la población linfocitaria B. Sin embargo, se ha observado la presencia de linfocitos T con capacidad de reconocer progenitores celulares autólogos. Estos linfocitos T autorreactivos son capaces de producir interferón gamma (IFN-γ) y factor de necrosis tisular a nivel local. Ambas citocinas provocan la inhibición *in vitro* de la hematopoyesis, además de incitar la apoptosis de los progenitores hematopoyéticos por medio del ligando Fas. En la aplasia medular asociada con hepatitis es evidente la activación de linfocitos T citotóxicos y mielotóxicos por el virus, al igual que con el parvovirus B-19 en la aplasia pura de la serie roja. Estos fenómenos invitan a interpretar la fisiopatología como un fenómeno autoinmune con algunas particularidades. La curación de algunos casos después de recibir tratamiento inmunosupresor es la confirmación de esta hipótesis.

La relación entre la aparición de una enfermedad clonal, como la hemoglobinuria paroxística nocturna y la leucemia aguda durante la evolución de la enfermedad, y el mecanismo inmunológico, sigue sin tener una explicación.

Manifestaciones clínicas

La aplasia medular carece de signos y síntomas específicos, y sus manifestaciones clínicas son similares a las observadas en otras enfermedades como leucemias, algunos tipos de síndromes linfoproliferativos, mielofibrosis y mielodisplasias.

Están causadas por el fallo hematopoyético, y la intensidad de su expresión está en relación directa con la profundidad de la pancitopenia[6].

El paciente consulta habitualmente por un síndrome anémico acompañado de hemorragia en la piel y/o en las mucosas. De forma menos frecuente, consulta por una infección aislada o únicamente por un síndrome anémico, como forma inicial de la enfermedad. Mientras que algunos enfermos son diagnosticados en el curso de una revisión médica rutinaria, otros tienen una presentación aguda. El *síndrome anémico* asociado con hemorragias es la forma de aparición más frecuente y se acompaña de trastornos hemodinámicos en el 50% de los casos. La *hemorragia* se manifiesta como equimosis, petequias, epistaxis y defectos del campo visual. En general, es leve, aunque en un 20% de los casos puede ser grave y causa de muerte. La fiebre aparece en un 30-40% de los casos y es, como expresión de una *infección*, la causa del 6% de fallecimientos al diagnóstico. La exploración física confirma la presencia de anemia, infecciones o hemorragias. La presencia de esplenomegalia o adenopatías pone en duda el diagnóstico a menos que se deba a una infección.

Pruebas complementarias

Análisis de la sangre periférica

Todos los pacientes presentan un descenso de las cifras de todas las series hemoperiféricas durante la evolución de la enfermedad, pero solamente el 83% de los casos al diagnóstico. La citopenia más frecuente al inicio es la *trombocitopenia*. El 75% de los enfermos tienen recuentos inferiores a 30×10^9/L. El tamaño y la vida plaquetar media son normales. No hay datos sobre su función.

Aunque en las formas menos agresivas el recuento de neutrófilos suele ser normal, la *neutropenia* es la norma. El análisis diferencial puede detectar la presencia de algún mielocito y metamielocito. Se puede observar un descenso de la cantidad de monocitos. Apenas hay información sobre los cambios en los recuentos de basófilos y eosinófilos. Los estudios de la función granulocitaria no han aportado datos de interés. La neutropenia es más frecuente que la leucopenia, dado que el recuento de linfocitos suele ser normal o, incluso, elevado. Durante la evolución aparece una linfopenia en cerca del 40% de casos. La morfología linfocitaria es normal, y se pueden observar algunos linfocitos estimulados. No se han detectado modificaciones en las proporciones de las subpoblaciones linfocitarias mediante su análisis por citometría de flujo[7].

La *anemia* va acompañada de reticulocitopenia, que puede llegar a ser absoluta.

La cifra total de hematíes y el valor de la hemoglobina pueden alterarse si se reciben transfusiones. El parámetro más fiable para monitorizar la serie roja es el número de reticulocitos. Este recuento puede variar dependiendo del método empleado, por lo que se prefiere el *porcentaje de reticulocitos corregido por el hematocrito* en lugar de utilizar valores absolutos. En algunos pacientes, transfundidos o no, hay una elevación del volumen corpuscular medio. La morfología eritrocitaria se caracteriza por anisopoiquilocitosis. La presencia de un pequeño porcentaje de eritroblastos no es incompatible con el diagnóstico de aplasia. Puede detectarse elevación de la hemoglobina F y de algunas enzimas eritrocitarias. Algunas de estas alteraciones reflejan una diseritropoyesis acompañante y deben de considerarse en el diagnóstico diferencial de esta enfermedad.

Otras exploraciones analíticas

La proliferación y maduración anormal de los eritrocitos induce modificaciones secundarias en el metabolismo del hierro, con un balance final positivo y tendencia a *siderosis* hepática, incremento del hierro medular y macrofágico, así como de la sideremia y de la ferritinemia. Las necesidades transfusionales y la presencia de hemorragias pueden modificar estas alteraciones. No se han detectado modificaciones en la absorción intestinal de hierro.

Los niveles séricos de los factores de la coagulación están conservados. La velocidad de sedimentación globular (VSG) se acelera debido a la anemia y a las complicaciones acompañantes. Algunos autores han detectado un 15% de enfermos con un déficit de inmunoglobulinas. Ciertas complicaciones pueden provocar la aparición de una hipergammaglobulinemia policlonal durante la evolución. Los incrementos de los niveles séricos de bilirrubina no conjugada, lactodeshidrogenasa y aldolasa son la consecuencia de una eritropoyesis ineficaz.

Citología e histopatología

El *mielograma no es una prueba válida para el diagnóstico* de la aplasia medular, pero puede ayudar al diagnóstico diferencial. La distribución de la lesión aplásica en la médula ósea es heterogénea, coexistiendo áreas de celularidad conservada con otras vacías. La hipocelularidad hematopoyética es, en diverso grado, habitual, y va acompañada de un aumento de células adiposas, de estroma, linfocitos, plasmáticas y macrófagos. De algunas de estas células, consideradas clásicamente de «relleno», hoy se sabe que intervienen en la fisiopatología de la enfermedad. El descenso de la hematopoyesis puede cuantificarse como *porcentaje de celularidad no mieloide*. Para ello, se cuentan entre 500 y 1.000 células hematopoyéticas y de estroma como la serie roja hasta eritrocito, la serie granulopoyética, linfocitos, monocitos, megacariocitos, mastocitos, plasmáticas y reticulares. Se considera celularidad mieloide la constituida por cualquier célula, en cualquier fase de maduración, de la serie roja, hasta metamielocito en la serie blanca y los megacariocitos. El porcentaje de celularidad no mieloide corresponde al resultado de dividir, por la celularidad mieloide, la diferencia entre la celularidad total y la mieloide, y multiplicarlo todo por 100.

La aplasia medular puede ir acompañada de diseritropoyesis, cuyo significado no está explicado. Se ha sugerido que pueda tener relación con el agente inductor de la aplasia, siguiendo el ejemplo del benzol, que puedan existir clonas anómalas que se desarrollen durante el proceso o que sea una complicación de la recuperación de la lesión. Las anomalías cualitativas pueden afectar a la serie granulopoyética y plaquetaria. Así como la presencia de diseritropoyesis no tiene un significado especial, las lesiones de las otras series, en particular en la megacariocitaria, pueden predecir la futura evolución hacia un síndrome mielodisplásico[8].

La *biopsia medular es esencial para el diagnóstico* de aplasia[9,10], y contribuye a su diagnóstico diferencial, pero no es una prueba para el seguimiento de la evolución ni para valorar la eficacia de un tratamiento. La muestra debe obtenerse de una zona alejada de otra previamente biopsiada, y el tamaño debe de ser superior a un centímetro de largo, contando desde el inicio de la zona subcortical, eliminando, así, el riesgo de considerar como hipoplasia la grasa subcortical que existe en individuos sanos, o de desestimar la presencia

de focos hipercelulares en esa zona. La interpretación de la celularidad medular puede variar según la edad del paciente y el método de valoración. La imagen característica consiste en *la sustitución del tejido hematopoyético por células linfoides, plasmáticas y macrofágicas en ausencia de fibrosis,* aunque algunos autores aceptan la presencia de una fina fibrosis reticulínica. La lesión de la estructura intersticial se define como una hemorragia intersticial y edema interfibrilar; esta última lesión debe diferenciarse de la *transformación gelatinosa medular.* Otras imágenes características de la aplasia son: *a*) la presencia focal de células eritroides y granulocíticas, en idéntico estado madurativo pero con abundantes mitosis y signos de diseritropoyesis, y *b*) el incremento del número de macrófagos y del hierro reticular.

Investigación isotópica de la hemopoyesis

Los pacientes con aplasia medular muestran incapacidad para incorporar, de forma habitual, el hierro en los eritroblastos. Este hecho ha permitido desarrollar exploraciones isotópicas que cuantifican el fallo eritropoyético. Usando el isótopo ^{59}Fe, en forma de citrato ferroso, puede definirse un patrón típico, aclaramiento prolongado e incorporación reducida. Su aplicación queda limitada por el tiempo, excesivamente prolongado, que se requiere para su interpretación, pero puede ayudar en el diagnóstico diferencial con las anemias refractarias, en las que se detecta un aclaramiento plasmático normal del isótopo. Los intentos de simplificar la exploración mediante el empleo de otros isótopos, como el ^{52}Fe y el ^{55}Fe, no han solucionado el problema debido a la dosis de irradiación que recibe el paciente. Una alternativa a los estudios ferrocinéticos ha sido la gammagrafía hematopoyética mediante ^{113}In. Este isótopo es transportado por la transferrina plasmática y permite identificar las áreas de eritropoyesis.

Resonancia magnética

La resonancia magnética (RM) permite visualizar la médula ósea de una forma más clara que el resto de las técnicas de imagen, dada la diferencia de las señales que corresponden al hueso y a la grasa[11]. En la hipoplasia medular, las células hematopoyéticas son sustituidas por células grasas, resultando un acortamiento de la fase T1 y pudiéndose localizar áreas hiperplásicas entre la médula ósea anormal. Algunos niños con aplasia pueden mostrar una señal uniformemente intensa en los fémures, cadera y húmeros, parecida a la de los controles normales[12,13]. La comparación cuantitativa de la relación agua-grasa permite, también, distinguir diferentes patrones[14]. La RM es un método no invasivo para analizar y cuantificar el contenido celular en esta enfermedad, pero se necesita más experiencia para confirmar la relevancia clínica de esta técnica.

Diagnóstico y diagnóstico diferencial

Procede recordar de nuevo que para el diagnóstico no basta con el hallazgo de un aspirado medular acelular, sino que es obligado recurrir a la biopsia medular. Esta exploración suele ser de gran ayuda en el diagnóstico diferencial con todos los procesos capaces de cursar con pancitopenia. Debe también realizarse un test de Ham y el cribado inmunofenotípico de las alteraciones de las proteínas de la membrana celular ligadas a fosfoinositol en los hematíes y granulocitos neutrófilos, para establecer la existencia de una *hemoglobinuria paroxística nocturna* y un análisis citogenético en material de médula ósea (si es viable) para detectar anomalías propias de un *síndrome mielodisplásico.*

Evolución y pronóstico

En su evolución natural, la curva de supervivencia de la enfermedad es bifásica[6,15], lo que permite reconocer dos formas clínicas de aplasia medular adquirida: una *grave*, con frecuencia mortal antes de los tres meses, y otra *menos grave,* aunque la esperanza de vida de los enfermos que reciben únicamente soporte transfusional es inferior al 5% a los cinco años del diagnóstico.

Con el fin de poder indicar la terapia más idónea en función del pronóstico, se han diseñado numerosos índices con un diferente grado de aplicabilidad. Se reconoce que la gravedad está en relación con la profundidad de la pancitopenia, que las formas menos graves van acompañadas de una elevación del volumen corpuscular medio y de la hemoglobina fetal, y que la detección de una infiltración linfoplasmocitaria extensa en la biopsia medular[16] es un parámetro de gravedad. Se ha consensuado internacionalmente como criterio de gravedad[17] la presencia de una *médula ósea intensamente* aplásica (inferior al 25% de la celularidad hematopoyética) *o hipoplásica* (25-50% de la celularidad hematopoyética normal, pero con una cantidad superior al 70% de células no hematopoyéticas) *asociada a*, por lo menos, *dos* de los siguientes *valores hemoperiféricos*: *reticulocitos* (corregidos por el hematocrito) *inferiores al 1%, granulocitos neutrófilos inferiores a* $0{,}5 \times 10^9$*/L y plaquetas inferiores a* 20×10^9*/L*. A pesar de la amplia utilización de estos criterios, a nuestro juicio dentro de los casos de aplasia grave así definidos se incluyen pacientes con cuadros menos graves. Ello es debido a que el límite del 1% de reticulocitos corregidos es muy alto y comprende la gran mayoría de aplasias, cualquiera que sea su gravedad. Al estudiar la distribución percentil de diversos parámetros hemoperiféricos en 213 casos de aplasia medular[18], pudimos comprobar que el límite de reticulocitos corregidos que se corresponde con el límite de $0{,}5 \times 10^9$/L granulocitos es de 0,14%, es decir, mucho más bajo. No es de extrañar, por tanto, que dentro del grupo de aplasias definidas como graves por los criterios internacionales puedan aislarse subgrupos de diferente pronóstico. En este sentido aboga también la propuesta de considerar a las aplasias como *muy graves cuando cursan con menos de* $0{,}2 \times 10^9$*/L granulocitos*[19]. En nuestra experiencia, este último grupo suele tener menos del 0,01% de reticulocitos corregidos, menos de $0{,}01 \times 10^9$/L monocitos y menos de 5×10^9/L plaquetas, así como un volumen corpuscular medio en torno a 85 fL. Todo ello traduce la ausencia prácticamente total de hematopoyesis residual y, por tanto, la improbabilidad de que se consiga una reconstitución hematopoyética autóloga.

Profilaxis

El control de la exposición a los agentes etiológicos es una medida deseable, aunque poco aplicable, debido al elevado porcentaje de casos considerados como idiopáticos. La aplicación de la legislación de higiene laboral en el caso de los derivados bencénicos y de los insecticidas, la restricción del empleo de medicamentos que, como el cloranfenicol y algunos antiinflamatorios no esteroideos, tienen una relación bien demostrada, y las medidas de higiene y vacunaciones de determinadas infecciones víricas pueden ayudar a disminuir la incidencia de la enfermedad.

Tratamiento

Cuidados generales y soporte hemoterápico

Se ha de evitar la exposición al agente causal si éste se ha podido identificar. La mayoría de los pacientes fallecen por infección y/o hemorragia, y todos sufren un síndrome anémico. El aporte de hematíes en forma de concentrados, cuando exista clínica anémica o hematocrito inferior al 20%, y de plaquetas, solamente como tratamiento de hemorragias activas, es fundamental para permitir el tratamiento específico de la enfermedad. Las infecciones deben evitarse restringiendo el empleo de venopunciones, de catéteres y de aquellas exploraciones complementarias que puedan lesionar las barreras defensivas orgánicas contra los gérmenes. El tratamiento con antibióticos de amplio espectro, de forma empírica o selectiva, debe iniciarse ante cualquier sospecha de infección. No está confirmada la eficacia de la transfusión, profiláctica o terapéutica, de granulocitos. La irradiación de los productos hemáticos como profilaxis de la enfermedad de injerto contra el huésped transfusional es una recomendación, sobre todo en casos graves tratados con trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos o inmunosupresión. Cuando se pueda, deben transfundirse productos de donantes con serología negativa para citomegalovirus en aquellos pacientes no infectados previamente por este virus.

Tratamiento específico

Tratamiento primario: *inmunosupresión* o *trasplante de progenitores hematopoyéticos*.

La decisión debe basarse en la *disponibilidad de un hermano HLA idéntico, la edad del paciente y la gravedad de la enfermedad*[20]. Los pacientes que carezcan de un posible donante deben recibir tratamiento inmunosupresor como primera línea terapéutica. En los enfermos de edad inferior a 50 años con disponibilidad de donante y enfermedad grave, el trasplante de progenitores hematopoyéticos es probablemente la mejor elección, si bien debe considerarse la inmunosupresión si la cifra de polinucleares neutrófilos se encuentra entre 0,3 y 0,5 $\times$ 10^9/L.

1. Trasplante de progenitores hematopoyéticos
   a) *Donante: hermano gemelo univitelino*
      Es la situación teóricamente ideal, debido a la ausencia de enfermedad del injerto contra el huésped y, por tanto, está indicado el trasplante en cualquier situación, independientemente de la edad del receptor y de la gravedad de la enfermedad. El International Bone Marrow Transplant Registry[21] ha analizado 40 pacientes de aplasia que han recibido progenitores de médula ósea de un hermano gemelo univitelino entre 1964 y 1992. Veintitrés no fueron acondicionados y 17 recibieron tratamiento previo a la infusión con ciclofosfamida, sola o combinada con otros medicamentos o radioterapia. La supervivencia de los pacientes trasplantados a los 10 años de seguimiento ha sido del 78% siendo significativamente superior en el grupo que no había recibido acondicionamiento (87% *versus* 70%). Sin embargo, la estabilidad del inóculo ha sido significativamente mejor y más estable en los pacientes que han recibido algún tipo de acondicionamiento. El tratamiento de acondicionamiento mejora la recuperación de la hematopoyesis, pero no influye en la supervivencia.

   b) *Donante: hermano HLA compatible*
      Según refieren algunos autores[22], la supervivencia esperada de los enfermos tratados de esta forma es del 90% entre los 5-10 años del trasplante. La experiencia española (1981-1998), basada en el análisis de la supervivencia de 135 pacientes, es de 63,3 ± 4% a los 10 años, similar a la reportada por el Grupo Europeo de Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos y a la observada en el Hospital Clínic de Barcelona[23]. En la última década, los resultados del trasplante han mejorado por dos razones: la disminución del rechazo del inóculo, y la menor incidencia de la enfermedad del injerto contra el huésped aguda y crónica. La disminución del rechazo del injerto se debe a un mejor cuidado de los enfermos que llegan al trasplante, como sucede con la administración razonada de productos hemoterápicos, contribuyendo a la disminución de la sensibilización a los antígenos menores de histocompatibilidad de las células del donante. También se han desarrollado tratamientos de acondicionamiento de mejor cualidad inmunosupresora[24]. Los esquemas que incluyen la radioterapia han demostrado su eficacia en el descenso y desaparición del rechazo, pero han incrementado las complicaciones relacionadas con el trasplante, como la incidencia y gravedad de la enfermedad del injerto contra el huésped, el desarrollo de segundas neoplasias extrahematológicas, infertilidad y retraso en el crecimiento. La combinación de ciclofosfamida y globulina antitimocítica parece aportar resultados parecidos a los esquemas que incluyen radioterapia, aunque con un menor riesgo de complicaciones. La introducción de la ciclosporina A en la profilaxis de la enfermedad del injerto contra el huésped ha contribuido a su mejor control[25,26]. El Grupo Europeo de Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos aconseja la médula ósea como fuente de obtención de los progenitores para su trasplante. El trasplante de progenitores de sangre periférica en la aplasia medular se considera experimental y de mayor riesgo, al haber datos que apoyan la presencia de una mayor incidencia de enfermedad del injerto contra el huésped crónica, en comparación con la observada con los progenitores de médula ósea.

   c) *Donante alternativo: familiar semicompatible, familiar fenotípicamente idéntico y donante no emparentado*
      Los trasplantes de progenitores de donantes alternativos *no están indicados como primera línea terapéutica*, cualquiera que sea la edad del receptor. Los datos recientes de los registros del Grupo Europeo de Trasplante, del Registro Internacional y del International Marrow Unrelated Search and Trasplant Study indican que la supervivencia actuarial a los 2 años de un trasplante de este tipo es del 35-45%[27]. La experiencia se basa en una población joven, si bien el análisis univariante no muestra diferencia estadística si el corte es a los 17 años. Los datos del Grupo Europeo de Trasplante indican una peor supervivencia para los enfermos trasplantados a los dos años del diagnóstico. Los trasplantes de progenitores a partir de donantes alternativos deben considerarse una terapéutica de rescate para los pacientes que fracasan al tratamiento inmunosupresor. Está por investigar si, en estos casos, debe hacerse el trasplante tras un primer o segundo fracaso a la inmu-

nosupresión. No hay datos suficientes sobre la elección de un donante familiar semicompatible o un donante no emparentado fenotípicamente idéntico, si bien los resultados actuales no benefician a ninguna de las dos opciones. La utilización de donantes no emparentados tipificados mediante técnicas de DNA de alta resolución ha permitido mejorar la eficacia de este tipo de trasplante en el tratamiento de las leucemias agudas. Esta metodología no parece ser tan necesaria en el caso de la aplasia medular. La experiencia del grupo de trasplante de Seattle muestra que el resultado de la prueba cruzada de enfrentamiento del suero del paciente con las células mononucleadas de la sangre periférica del donante permite excluir un potencial donante semicompatible. Los datos aportados por los diversos grupos de investigación muestran que la probabilidad de fallo del inóculo es superior al 35% cuando se usan protocolos de acondicionamiento sin irradiación. El empleo de la irradiación corporal total reduce el rechazo, pero acorta la supervivencia. La experiencia del grupo de trasplante infantil de Milwaukee empleando irradiación corporal total y depleción parcial linfocitaria T mejora la supervivencia en este tipo de trasplante. En estos momentos, se están experimentando esquemas que incluyen dosis no mieloablativas de irradiación corporal total (2 × 200 y 3 × 200 cGy) o irradiación nodal, con el fin de disminuir la frecuencia y gravedad de la enfermedad del injerto contra el huésped aguda y crónica. También parecen tener expectativas los esquemas de acondicionamiento basados en la fludarabina. No hay información suficiente sobre las ventajas o desventajas de la depleción linfocitaria T *in vivo* o *ex vivo*.

Los datos de Seattle sobre el trasplante de progenitores de familiares fenotípicamente idénticos equiparan su eficacia a la observada por el mismo grupo con los trasplantes entre hermanos histocompatibles, empleando un protocolo de acondicionamiento y de profilaxis de la enfermedad del injerto contra el huésped similar, y sin necesidad de asociar radioterapia.

2. *Tratamiento inmunosupresor*

Los pacientes que no reúnan los criterios de trasplante deben recibir un tratamiento inmunosupresor. Como primera línea de tratamiento de la aplasia medular, grave y muy grave, se recomienda la administración conjunta de *gammaglobulina antitimocítica* (ATG) y *ciclosporina A*[28]. Los ensayos realizados con ciclosporina A[29], sola o asociada a rhG-CSF (recombinante humano del factor de crecimiento de colonias granulocitarias), han sido menos eficaces. La dosis convencional de ATG es de 15 a 40 mg/kg/día (dependiendo del tipo de ATG) durante 4 o 5 días consecutivos. Los ensayos clínicos aleatorizados y los metaanálisis de los estudios realizados utilizando diversas dosis no han demostrado que las formas más intensivas de administración de ATG mejoren la supervivencia. No hay datos sobre la diferente eficacia de los tipos de ATG según sea su origen (conejo, caballo, etc.). El tratamiento de primera línea de la aplasia medular no grave es, también, la combinación de ATG con ciclosporina A administrados de forma conjunta o secuencial[30].

La edad no es un factor limitante para la administración del tratamiento inmunosupresor. La decisión debe basarse en el estado general del paciente. Está demostrado que el tratamiento inmunosupresor de enfermos con edad superior a 60 años obtiene las mismas respuestas que en las personas más jóvenes[31]. El tratamiento inmunosupresor ofrece las mismas posibilidades a los niños y a los adultos, por lo que no hay razones para diferenciar la estrategia.

3. *Factores de crecimiento celular*

La utilización de los factores de crecimiento celular debe hacerse en el contexto de un ensayo clínico y, sobre todo, *deben usarse acompañando a un tratamiento inmunosupresor*. Una indicación del rhG-CSF es la de soportar las complicaciones infecciosas en situaciones de neutropenia[32]. Se ha descrito un incremento de leucemia aguda con expresión de monosomía del cromosoma 7 en niños con aplasia que han recibido rhG-CSF durante largos períodos de tiempo. El tema está en discusión, y muy probablemente se debe evitar la administración de rhG-CSF a los pacientes con aplasia medular que presenten anomalías citogenéticas en el momento del diagnóstico[33].

Fracasos a la primera línea de tratamiento inmunosupresor y recaídas

No se recomienda el uso aislado de soporte hemoterápico en los enfermos con fracaso a la primera línea de tratamiento inmunosupresor. *Los pacientes con edad inferior a 50 años y con un hermano histocompatible deben recibir un trasplante de progenitores hematopoyéticos*. Los que tengan una edad más avanzada y estén en la misma situación, y todos los que no dispongan de donante, deben recibir un segundo ciclo de inmunosupresión (incluyendo ATG y ciclosporina A). Queda por determinar cuál es la ubicación del trasplante de progenitores de donantes alternativos. La readministración de ATG en los enfermos recaídos o con resistencia a un primer ciclo de inmunosupresión es segura y eficaz. El tratamiento debe repetirse con el mismo ATG que fracasó en el primer momento, sin que esto aumente el riesgo para el paciente ni aparezcan más efectos adversos. Un segundo ciclo de inmunosupresión en los pacientes que fracasan en el primer tratamiento ofrece respuestas superiores al 40%, porcentaje igual o superior al observado con el trasplante de progenitores de donantes alternativos. La mayoría de los pacientes que recaen vuelven a responder al retratamiento con el régimen inicial con el que se obtuvo respuesta. La repetición de los tratamientos con ATG se asocia con un incremento del riesgo de aparición de complicaciones de tipo clonal (hemoglobinuria paroxística nocturna y mielodisplasia). La recidiva es un problema importante en el tratamiento de la aplasia medular. El riesgo actuarial de recaída en los pacientes que responden a la inmunosupresión es superior al 30%. El porcentaje de respuesta al retratamiento es superior al 70%. En los pacientes que recaen y que responden al retratamiento, el hecho de la recaída no influye en su supervivencia[34].

Fallos en la segunda línea de tratamiento inmunosupresor

No hay una recomendación terapéutica clara en esta situación. Los enfermos deben tratarse dentro de protocolos clínicos de investigación (nuevos inmunosupresores, como la ciclofosfamida en dosis elevadas[35] y sin progenitores, nuevas

citocinas, trasplante a partir de donantes alternativos, autotrasplante[36,37], etc.). La eficacia de los *andrógenos* ha sido motivo de fuerte controversia. Los defensores basan sus argumentos en la existencia, real, de personas con respuesta hematopoyética dependiente de la medicación. Los detractores refieren la escasez de estudios controlados. De los tres ensayos aleatorizados sobre la eficacia de los andrógenos que se han publicado, en dos el número de casos incluidos es pequeño, y sus resultados, contradictorios. Un tercero, más numeroso, concluye que el tratamiento con andrógenos no influye en la supervivencia general de la serie, pero identifica dos grupos, los niños y las mujeres, en los que su administración influye, favorablemente, en la recuperación de la hemopoyesis[38].

Aplasias congénitas o constitucionales

Son un conjunto de procesos que suelen manifestarse al nacer o en la niñez, y pueden reconocer una base hereditaria.

Anemia de Fanconi

En 1927 Fanconi describió en tres hermanos la coexistencia de aplasia medular y de múltiples anomalías congénitas. Desde entonces, se han descrito varios centenares de pacientes similares. Entre las malformaciones descritas con mayor frecuencia cabe citar: hiperpigmentación cutánea, anomalías del pulgar (hipoplasia o aplasia), malformaciones renales (riñón en herradura, agenesia o ectopia renal), retraso en el desarrollo pondoestatural y sexual, microcefalia y otras. Se observan casos de anemia de Fanconi sin malformaciones.

La herencia es un proceso autosómico recesivo, siendo la frecuencia de heterocigotos de 1 por 300-600 individuos, y aún superior en poblaciones especiales (1 por 80 entre los afrikaaner de Sudáfrica).

La aplasia de Fanconi no es una sola enfermedad sino un síndrome ocasionado por la mutación de diversos genes. En algunos pacientes, la mutación afecta a un gen del cromosoma 9, y en otros, a un gen del cromosoma 20. Las mutaciones en otros tres genes, aún no localizados, podrían causar el cuadro. Para la determinación del genotipo se dispone de un material de gran valor. Al tratarse de un *trastorno de los procesos de reparación del DNA* (en forma de *crosslinking* o ligazón cruzada), determinadas sustancias son capaces de provocar un aumento de roturas cromosómicas (efecto clastogénico). Dichas roturas, observables ya de forma espontánea, pueden incrementarse notablemente al añadir al cultivo tales sustancias, de las que se ha propugnado sobre todo el diepoxibutano (DEB).

En 1982 se fundó, en la Rockefeller University de Nueva York, el Registro Internacional sobre la Anemia de Fanconi (IFAR)[39], en el que se recogen casos de esta enfermedad procedentes de todo el mundo. A partir de los datos de este registro cabe concluir que es paciente o portador de un trastorno tipo Fanconi todo sujeto que presenta un aumento del número de roturas cromosómicas por célula (DEB-sensible). Con esta redefinición del proceso se admite, por un lado, la existencia de casos sin malformaciones congénitas y, por otro, la de casos de hipoplasia con malformaciones, sin que se trate de anemia de Fanconi (DEB-sensibles). En este sentido se conocen, por ejemplo, cuadros de insuficiencia medular familiar de instauración tardía, con fusión del radio y del cúbito, pero sin roturas cromosómicas, ni espontáneas ni inducidas. Además del examen citogenético, tiene utilidad para el diagnóstico de la anemia de Fanconi un índice clínico que se presenta en la tabla 14.2.

TABLA 14.2

Índice clínico para el diagnóstico de la anemia de Fanconi

Retraso del crecimiento	+1
Pigmentación anormal	+1
Malformaciones de riñón y vías urinarias	+1
Microftalmia	+1
Dificultades de aprendizaje	−1
Trombocitopenia	+1
Anomalías del pulgar y radio	+1
Otras anomalías del esqueleto	−1

Índice de 3: probabilidad de anemia de Fanconi de 0,92
Índice de 4 o superior: probabilidad de anemia de Fanconi de 0,98

De acuerdo con estos estudios, se establece el diagnóstico de anemia de Fanconi cuando, en un caso de aplasia, el examen citogenético muestra la existencia de roturas cromosómicas, sea en cultivo simple o mediante adición de DEB (u otra sustancia de efecto clastogénico). Alternativamente, el diagnóstico es muy probable cuando el índice clínico es 3 o superior.

El cuadro clínico de la anemia de Fanconi no difiere del descrito para las aplasias adquiridas. A diferencia de lo sostenido en las fuentes bibliográficas más clásicas, hoy se admite una gran variabilidad en la expresión del proceso y la frecuente instauración tardía o, incluso, la posibilidad de formas subclínicas.

A pesar de que la incidencia de la leucemia aguda está aumentada en la anemia de Fanconi, de los estudios del registro se desprende que la enfermedad no es tan grave como se había sostenido. En efecto, su supervivencia actual a los 10 años es del 80%, y a los 20 años, del 56%, siendo la supervivencia media de unos 25 años. *Procede asegurar el diagnóstico de anemia de Fanconi en cualquier caso de aplasia juvenil* y no sólo en la niñez. Ello es importante por dos motivos. Por un lado, para detectar casos familiares poco expresivos clínicamente, y por otro, porque si se recurre al trasplante de progenitores hematopoyéticos, el acondicionamiento debe de ser menos intenso que en las aplasias[40]. *El trasplante de progenitores hematopoyéticos es el tratamiento de elección cuando se dispone de un hermano histocompatible que no exprese clínicamente la enfermedad*[41]. El uso de dosis reducidas de ciclofosfamida con irradiación toracoabdominal en el acondicionamiento ha mejorado la supervivencia, aunque pacientes hematológicamente curados presentan una incidencia elevada de tumores sólidos. Los resultados del trasplante usando donantes alternativos no han sido tan satisfactorios como en otras enfermedades, al contrario del *trasplante de células de cordón umbilical de un donante familiar histocompatible*. El trasplante de progenitores de cordón umbilical no relacionado debe considerarse experimental y evaluarse dentro de registros y estudios prospectivos. Se está investigando el trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos y la terapia génica.

Otras aplasias congénitas

En este apartado se incluyen diversos procesos que suelen manifestarse al nacer o en la niñez, o que reconocen una base hereditaria, pero que ofrecen algunas características que permiten su separación de la anemia de Fanconi. Es un capítulo relativamente confuso que ha ido perfilándose mejor a medida que la definición de la anemia de Fanconi ha sido más precisa.

Con el calificativo de *síndrome de Estren-Dameshek* se conoce la aplasia familiar sin malformaciones. Los casos de este síndrome que presenten una fragilidad cromosómica deben considerarse como anemia de Fanconi.

Se conocen casos de aplasia medular con malformaciones esqueléticas sin alteraciones citogenéticas. La asociación de disqueratosis congénita e hipoplasia medular se conoce como *síndrome de Zinsser-Cole-Engman*. La disqueratosis congénita es una alteración genética poco frecuente que se caracteriza por la tríada: pigmentación reticulada de la piel (con atrofia y eritema asociados), onicodistrofia y leucoplasia de la mucosa oral y genital. Con menor frecuencia, se describen anomalías de los ojos, orejas, esófago, huesos, dientes y aparato urogenital. Cuando existen manifestaciones hematológicas, éstas se caracterizan por una pancitopenia, aunque a veces con predominio de leucopenia y anemia, con médula hipocelular. El síndrome ofrece cierto parecido con la anemia de Fanconi, pues también muestra una mayor incidencia de leucemia aguda y neoplasias sólidas. Sin embargo, la herencia de este cuadro está ligada al cromosoma X, mientras que la anemia de Fanconi es autosómica recesiva. Tampoco parece existir en esta entidad el efecto clastogénico, típico de la anemia de Fanconi.

Por último, procede mencionar las monocitopenias de tipo congénito. En ellas, el déficit productor afecta de modo aislado o muy predominantemente a una sola serie hematopoyética, si bien las restantes pueden mostrar cierto grado de afectación. En este capítulo se refieren más adelante la eritroblastopenia congénita de Blackfand-Diamond y la trombopenia amegacariocítica congénita. Otra entidad que merece mencionarse en este contexto es el llamado síndrome de Schwachman-Diamond-Oski, caracterizado por neutropenia hipoplásica, displasia metafisaria e insuficiencia pancreática.

ERITROBLASTOPENIAS

En este caso, la aplasia se limita a la serie roja. Su mecanismo es autoinmune de tipo humoral (anticuerpos IgG contra los receptores de superficie de los progenitores eritropoyéticos o contra la eritropoyetina) y/o celular con un desequilibrio de los linfocitos Th1 y Th2 hacia estos últimos por proliferación de la población linfoide gamma/delta.

Las eritroblastopenias puras se clasifican en *congénitas* y *adquiridas*. Estas últimas pueden dividirse, a su vez, en *agudas* y *crónicas*, *primarias* y *secundarias*. Entre las agudas se incluyen las crisis eritroaplásicas observadas en anemias hemolíticas congénitas o autoinmunes, en nefropatías anúricas agudas, procesos infecciosos (neumonía atípica, sepsis, parotiditis, etc.), las producidas por ingestión de ciertos fármacos (barbitúricos, aminopirina, etc.), incompatibilidad ABO entre donante y receptor, en el trasplante de progenitores hematopoyéticos o las surgidas de diversas situaciones toxicoalérgicas. Las formas crónicas aparecen en asociación con timoma, uremia crónica, neoplasias, infecciones, y también de modo idiopático. En la tabla 14.3 se expone la clasificación de las eritroblastopenias.

TABLA 14.3

Clasificación de las eritroblastopenias

Congénitas
Adquiridas
Primarias
Secundarias
Timoma
Virus
Epstein-Barr (mononucleosis infecciosa)
Parvovirus B-19
Citomegalovirus
Virus de la inmunodeficiencia humana
Fármacos o productos químicos
Anemias hemolíticas (crisis aplásticas)
Lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoide
Insuficiencia renal grave
Trastornos nutricionales graves
Neoplasias

Eritroblastopenia congénita de Blackfand-Diamond

Se debe a una formación insuficiente de eritroblastos. No existe una explicación exacta de esta eritropoyesis defectuosa. Durante tiempo, se ha sostenido que pudiera deberse a la existencia de factores inhibidores de tipo inmune, sean humorales o celulares. Actualmente, se tiende a considerar como una anomalía de la célula hematopoyética progenitora o del microambiente en el que ésta se desarrolla. En este sentido, cabe destacar la gran respuesta de crecimiento eritropoyético que se obtiene *in vitro* cuando se añade al cultivo *stem cell factor* o la interleucina 3. La enfermedad se pone de manifiesto en los primeros 18 meses de vida. *No suele acompañarse de malformaciones importantes*, lo que permite diferenciar el cuadro de la anemia de Fanconi. Sólo de forma excepcional es familiar. La mayoría de los pacientes responde favorablemente a los *corticoides*, que deben administrarse en dosis muy elevadas, aunque decrecientes, durante años (2 a 4 mg/kg/día). En algunos casos, la enfermedad remite de forma espontánea. El 20% resiste a la administración de glucocorticoides, por lo que debe recibir repetidas transfusiones, falleciendo a una temprana edad debido a hemosiderosis. La administración de eritropoyetina muestra, a veces, cierta eficacia, a pesar de que las concentraciones plasmáticas están elevadas. En enfermos resistentes *el trasplante de progenitores hematopoyéticos* puede conseguir la curación[42,43].

Eritroblastopenia adquirida

Suele comenzar de forma insidiosa, en adultos de 50 a 60 años, y tiene habitualmente una evolución crónica. Se caracteriza por una reticulopenia extrema y la desaparición prácticamente total de los eritroblastos de la médula ósea. En el 30-50% de los enfermos se asocia a un timoma. Por el contrario, sólo el 1-5% de pacientes con timoma presenta una eritroblastopenia adquirida. En ocasiones, además de la eritroblastopenia se registran otras afecciones de tipo inmu-

nológico, como la miastenia grave. Se han descrito eritroblastopenias adquiridas en las que se han incriminado etiológicamente algunos fármacos y tóxicos, o mecanismos autoinmunes, en ausencia de timoma. También se han referido casos asociados a hemopatías malignas, como leucemia aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielomonocítica crónica, mieloma, mielofibrosis, enfermedad de Hodgkin y linfomas no hodgkinianos, así como neoplasias no hematológicas (carcinoma de mama, estómago, pulmón, conductos biliares, piel y sarcoma de Kaposi). Puede aparecer tras la infusión de progenitores hematopoyéticos ABO incompatibles, y tambien hay casos idiopáticos.

Se ha reconocido la importancia de la infección por parvovirus humano B-19 en la génesis de las eritroblastopenias. Cabe distinguir dos formas clínicas distintas: *a*) crisis de eritroblastopenia aguda, habitualmente autolimitada, que afecta a individuos con anemia hemolítica crónica de tipo constitucional, y *b*) eritroblastopenia crónica persistente que se da en sujetos con diversos tipos de inmunodepresión (en infecciones por VIH, leucemias agudas, tratamiento con citostáticos). La presencia de proeritroblastos gigantes es muy indicativa de la infección por parvovirus B-19, aunque no constante. Su aparición parece relacionarse con los fenómenos de apoptosis celular que acompañan a la infección.

Ante toda eritroblastopenia aislada del adulto es necesario *buscar con insistencia un timoma*, mediante la práctica de radiografías y tomografías de tórax, preferiblemente en proyección lateral, o con una tomografía computarizada (TC), así como determinar la serología para el parvovirus B-19 en ausencia de otras patologías asociadas.

El tratamiento consiste en la práctica de una timectomía si hay timoma, y en la administración de *glucocorticoides* y, sobre todo, *ciclosporina A*. En las eritroblastopenias por parvovirus B-19 se han obtenido remisiones tras recibir *inmunoglobulina inespecífica con titulación positiva para el virus* (0,4 g/kg/día durante 5-10 días)[44]. En las eritroblastopenias surgidas tras la infusión de progenitores hematopoyéticos incompatibles, parece útil readministrar más dosis de progenitores, junto con linfocitos T del donante.

AMEGACARIOCITOSIS

Con este término se designan las trombocitopenias centrales debidas a la desaparición o disminución del número de megacariocitos. La mayoría de los casos son trombocitopenias amegacariocíticas asociadas a otras trombocitopenias, como puede ser el caso de las aplasias medulares no graves, o síndromes mielodisplásicos en su inicio. Las que se pueden considerar amegacariocíticas puras pueden ser congénitas o adquiridas. El diagnóstico se basa en la reducción o ausencia de megacariocitos demostrado por mielograma y/o biopsia medular.

Trombocitopenia amegacariocítica congénita

Se desarrolla al nacer o durante el primer año de vida. Puede asociarse con malformaciones, entre las que destacan las esqueléticas. De ellas, la más frecuente es la ausencia bilateral de los radios, conocida como *síndrome TAR* (trombocitopenia con ausencia de radios)[45]. Se transmite con rasgo autosómico recesivo. Se han detectado mutaciones en el gen *c-mpl* que interfieren la función del receptor de la trombopoyetina[46]. Su pronóstico depende de la profundidad de la trombocitopenia. No responde a tratamiento inmunosupresor ni a factores de crecimiento celular. Se han referido cuatro casos de niños trasplantados, tres, a partir de un donante no emparentado[47]. Dos de ellos rechazaron el inóculo, y en los otros dos, el trasplante ha servido para curar la enfermedad. Hay referencias de respuesta al tratamiento con esteroides anabolizantes. Los pacientes deben recibir soporte transfusional si presentan hemorragias. Pueden existir formas de trombocitopenia amegacariocítica congénita sin anomalías morfológicas asociadas.

Trombocitopenia amegacariocítica adquirida

Aparte de los casos ya señalados, en los que el proceso puede representar una fase inicial de aplasia medular o de leucemia aguda, se conocen cuadros de trombocitopenia amegacariocítica pura de índole adquirida. La mayoría parecen idiopáticas, si bien se han descrito casos asociados con LES, leucemia de linfocitos grandes granulares o la administración de medicamentos. El proceso parece ofrecer cierta semejanza con la eritroblastopenia pura, y también estaría mediado por mecanismos inmunológicos, habiéndose detectado proliferaciones linfocitarias CD8+DR+. Frecuentemente, cursa con inmunodeficiencia. Las otras dos series hematológicas no presentan alteraciones, a excepción del frecuente aumento del volumen corpuscular medio (VCM). Suele responder a *tratamiento inmunosupresor* con corticosteroides o ciclosporina A.

BIBLIOGRAFÍA

1. The International Agranulocytosis and Aplastic Anemia Study. Incidence of aplastic anemia: The relevance of diagnostic criteria. Blood 1987; 70:1718-1721.
2. Young NS, Issaragrasil S, Wen Chiech Ch, Takaku F. Aplastic anaemia in the Orient. Br J Haematol 1982; 62:1-6.
3. Sierra J, Marin P, Cararach V, Nomdedeu B, Grañena A, Montserrat E et al. Association of bone marrow aplasia and pregnancy: new cases. Med Clin (Barc) 1985; 84(2):65-67.
4. Evans IL. Aplastic anaemia in pregnancy remitting after abortion. Br Med J 1968; 3(611):166-167.
5. Tichelli A, Socie G, Marsh J, Barge R, Frickhofen N, McCann S et al. Outcome of pregnancy and disease course among women with aplastic anemia treated with immunosuppression. Ann Intern Med 2002; 137(3):164-172.
6. Marín P. (1981) Aplasia medular: análisis de los factores pronósticos. Tesis doctoral. Universidad de Barcelona.
7. Torok-Storb B, Doney K, Sale G, Thomas ED, Storb R. Subsets of patienta with aplastic anemia identified by flow microfluorometry. N Engl J Med 1985; 312:1015-1022.
8. De Planque MM, Kluin-Nelemans HC, Van Krieken HJM, Kluin PM, Brand A, Beverstock GC et al. Evolution of acquired severe aplastic anaemia to myelodysplasia and subsequent leukemia in adults. Br J Haematol 1988; 70:55-62.
9. Te Velde J, Haak HL. Aplastic anaemia. Histological investigation of methacrylate embedded bone marrow biopsy specimens; correlation with survival after conventional treatment in 15 adult patients. Br J Haematol 1977; 35:61-69.
10. Hernández-Nieto L, Rozman C. En: Biopsia medular en la clínica hematológica. En: Hernández-Nieto L, Rozman C (eds.). Barcelona: Salvat Editores, 1980; 4.
11. Amano Y, Kumazaki T. Proton MR imaging, an spectroscopy evaluation of aplastic anemia: three bone patterns. Comput Assist Tomogr 1997; 21:286-292.

CAPÍTULO 15

Neutropenias y agranulocitosis

M. Giralt

ÍNDICE

Aspectos generales
- Concepto
- Criterios de normalidad
- Variabilidad de las cifras granulocitarias
- Errores en las determinaciones
- Cinética de los neutrófilos

Neutropenias
- Mecanismos
- Tipos
  - *Neutropenias de diagnóstico sencillo*
  - *Neutropenias inmunológicas*
  - *Neutropenias infantiles*
  - *Neutropenias sin alteraciones fenotípicas*
  - *Neutropenias con alteraciones fenotípicas*

Agranulocitosis
- Etiología
- Fisiopatología
- Clínica
- Cuadro hemático
- Cuadro medular
- Diagnóstico
- Pronóstico
- Tratamiento
  - *Neutropenias no medicamentosas*
  - *Neutropenias medicamentosas*
  - *Agranulocitosis medicamentosa*

Síntesis final

Bibliografía

ASPECTOS GENERALES

Concepto

Las neutropenias o granulocitopenias y su expresión extrema, la agranulocitosis, son insuficiencias medulares parciales que recaen selectivamente sobre los granulocitos y sus precursores[1]. Se define como neutropenia una cifra de neutrófilos en sangre inferior a $1,5 \times 10^9$/L* (entre 1,5 y $1,0 \times 10^9$/L se habla de neutropenia leve y entre 1,0 y $0,5 \times 10^9$/L de neutropenia moderada o media)[2]. Cuando la cifra de granulocitos es $< 0,5 \times 10^9$/L es una neutropenia extrema o agranulocitosis. En los niños de edad inferior a un año la neutropenia se establece con cifras de granulocitos inferiores a $1,0 \times 10^9$/L[3]. En los individuos de raza negra el límite inferior de la normalidad se calcula en $1,3 \times 10^9$/L**. Como se observará más adelante, la neutropenia es, generalmente, un hallazgo de laboratorio y cursa de forma sintomática o paucisintomática; por el contrario, la agranulocitosis es un proceso grave que puede abocar a la muerte.

Criterios de normalidad

La cifra normal de leucocitos en el adulto es de $6,1 \times 10^9$/L con un intervalo entre 3,7 y 8,5. El error de replicación, es decir, la diferencia existente en las medidas de 10 alícuotas de la misma muestra es de $0,3 \times 10^9$/L[4]. La cifra normal de granulocitos oscila entre 1,5 y $7,5 \times 10^9$/L.

Variabilidad de las cifras granulocitarias

Así como en el sujeto sano las cifras eritrocitarias experimentan escasas modificaciones a lo largo del tiempo, los gra-

*En algún texto se habla de cifras de $1,8 \times 10^9$/L que en opinión del autor son menos representativas.

**De forma alternativa se plantean cifras $< 1,0 \times 10^9$/L.

nulocitos pueden sufrir variaciones de cierta importancia que deben ser tenidas en cuenta al valorar las cifras de estos elementos. En este sentido, debe recordarse que los leucocitos (y por supuesto los granulocitos, su fracción más importante numéricamente) aumentan por la tarde, con el ejercicio, la gestación y el puerperio. Las mujeres en edad fértil tienen una cifra leucocitaria superior a la de los hombres, y esta situación se invierte tras el climaterio. Los niños tienen una cifra leucocitaria superior a la de los adultos (aunque en éstos la cifra de granulocitos es mayor), sucediendo lo propio con los individuos de raza blanca en relación con los de raza negra.

Los neutrófilos pueden experimentar variaciones del 10% a lo largo del día, variación que puede alcanzar el 25% cuando se estudian los recuentos a lo largo del mes[5].

Errores en las determinaciones

Cuando la fórmula leucocitaria se realizaba por observación microscópica directa los errores en las determinaciones podían ser del orden del 25%. La introducción de la fórmula automatizada cambia por completo la situación, dado que el hemocitómetro realiza recuentos de varios cientos de células, lo cual reduce la variación estadística y las diferencias entre observadores. Los errores del laboratorio son imputables generalmente a una mala extracción, una escasa agitación del tubo o un calibrado incorrecto del aparato.

Con todo, los errores más importantes son los de interpretación tanto por unos valores de referencia incorrectos en la hoja de resultados del laboratorio como por una valoración errónea de unos datos normales por parte del médico. En nuestra experiencia, esta situación es muy frecuente, siendo fácilmente subsanable con una adecuada información sobre el particular.

Cinética de los neutrófilos

Al igual que las restantes células sanguíneas, los granulocitos se producen a partir de las células germinales. Una de estas células, estimulada por los factores de crecimiento (CSF o *colony stimulating factors*) se transforma en célula comprometida a la diferenciación hacia granulocitos o macrófagos. El primer precursor identificable morfológicamente es el mieloblasto, que a través de una serie de precursores intermedios experimentará en la médula ósea un proceso proliferativo y luego madurativo que finaliza con la salida del granulocito maduro a la sangre,

Los granulocitos pueden ser estimulados por una serie de citocinas: el factor estimulador de colonias granulocíticas (G-CSF), el factor estimulador de colonias granulocítico-macrofágicas (GM-CSF), el factor estimulador de colonias macrofágicas (M-CSF), la interleucina 3 (IL-3), el factor estimulador de colonias (CSF) y la interleucina 6 (IL-6), si bien el G-CSF y el GM-CSF desempeñan un papel primordial en la granulopoyesis. El CSF, G-CSF y GM-CSF pueden modular y favorecer la capacidad microbicida. Los efectos de estas sustancias sobre la proliferación y la función de los neutrófilos pueden ser de gran importancia para optimizar la respuesta de los neutrófilos a la infección[6,7].

Desde el punto de vista funcional, en los precursores granulocitarios se distingue un compartimento mitótico (constituido por mieloblastos, promielocitos y mielocitos) y un compartimento posmitótico (a expensas de metamielocitos, franjas y segmentados). Los neutrófilos en franja y los segmentados medulares constituyen el compartimento de reserva. En situación normal, el tiempo de maduración de los neutrófilos en la médula es de unos 10 días, tiempo que se acorta sensiblemente en las infecciones (fig. 15.1).

En sangre, los granulocitos se distribuyen en dos compartimentos: uno circulante y otro marginal, que importan un 50% cada uno y normalmente se hallan en equilibrio. Cuando se realiza un recuento de granulocitos, sólo se miden los existentes en el compartimento circulante. El tiempo de permanencia de los granulocitos en la sangre es de unas 10 horas. En la concentración de granulocitos en sangre intervienen tres factores fundamentales: *a*) la rapidez de salida desde el compartimento de reserva a la sangre; *b*) la proporción de neutrófilos que existen en los compartimentos marginal y circulante, y *c*) la rapidez con la que los granulocitos abandonan la sangre[8]. El G-CSF es la citocina más importante en el mantenimiento de la cifra de neutrófilos circulantes.

NEUTROPENIAS

La neutropenia es una alteración muy frecuente. Según la experiencia de nuestro grupo, los pacientes referidos por sospecha de neutropenia a una consulta de hematología se sitúan entre el 10 y el 15% del total[9]. En la figura 15.2 se ofrece un cuadro de decisión para la evaluación de la neutropenia.

Mecanismos

Las neutropenias pueden ser de origen central o periférico. Dentro de las primeras se distinguen tres tipos: *a*) por defecto de producción (neutropenias hipoplásicas); *b*) por granulocitopoyesis ineficaz (los compartimentos medulares son normales o están aumentados, pero se produce una muerte intramedular), y *c*) por liberación disminuida (la médula es capaz de liberar escasos elementos funcionalmente anormales, con normalidad de los compartimentos mitótico y posmitótico). Las periféricas se producen por: *a*) destrucción excesiva o de salida a los tejidos (inmunológicas, infecciones graves), y *b*) seudoneutropenias o neutropenias de reparto en las cuales existe un aumento del compartimento marginal con respecto al circulante (tabla 15.1).

Esta clasificación cinética, aunque clara, es poco útil en la práctica diaria porque algunos procesos participan de más de un mecanismo y en otros no existe una idea precisa del mismo. Asimismo, las clasificaciones basadas en estudios bioquímicos y funcionales son de difícil aplicación por la compleja metodología que se ha de emplear.

Tipos

Existen numerosos tipos de neutropenias, algunas de las cuales son de presentación excepcional (tabla 15.2). Desde el punto de vista práctico se pueden clasificar en tres grupos: de diagnóstico sencillo, inmunológicas y del niño. Esta clasificación puede resultar un tanto artificiosa, porque dentro del grupo de las neutropenias inmunológicas se incluyen diversos cuadros que se presentan en la infancia; sin embargo, la posibilidad de identificar en ellos iso o anticuerpos frente a los granulocitos justifica su separación[10].

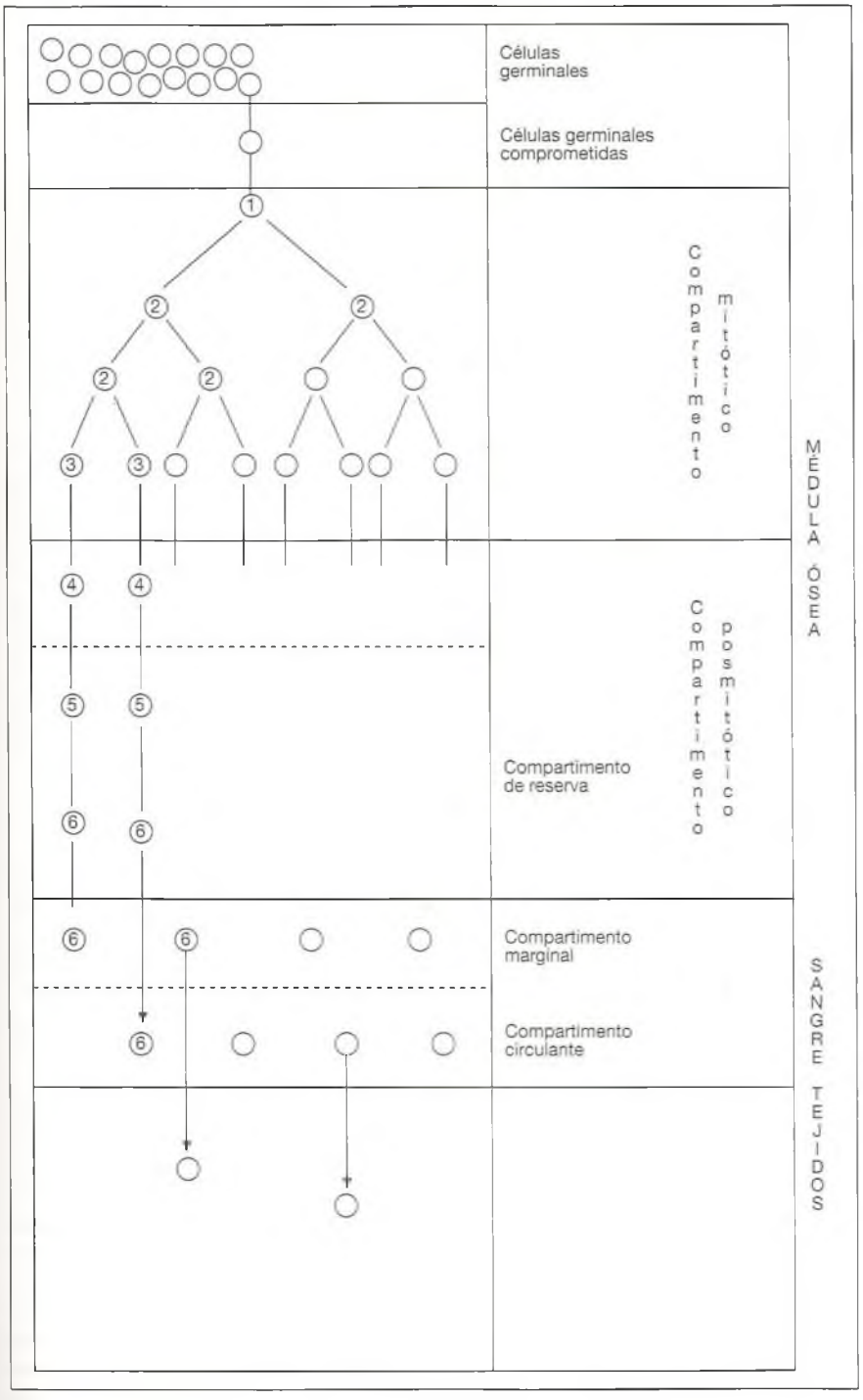


Figura 15.1. Cinética de los granulocitos. Compartimento medular y sanguíneo. 1) mieloblastos; 2) promielocitos; 3) mielocitos; 4) metamielocitos; 5) bandas, y 6) segmentados.

Neutropenias de diagnóstico sencillo

Como acaba de indicarse, es un grupo artificioso, pero sumamente útil desde el punto de vista práctico, ya que incluye numerosos procesos de fácil diagnóstico a través de una simple anamnesis o mediante estudios relativamente sencillos. Las neutropenias de diagnóstico sencillo suponen más del 90% de los casos observados en la práctica diaria. Indudablemente, el grupo más importante de enfermos está incluido en el grupo de los fármacos, pero no deben olvidarse las secundarias a hepatopatías crónicas o a la infección por VIH.

Neutropenia asociada a fármacos

Esta alteración se registra con mayor frecuencia en mujeres (relación V/M 1/4) de edad media-avanzada (40-70 años) y que toman diversos fármacos entre los que predominan los ansiolíticos o antiinflamatorios no esteroideos (estos últimos administrados a menudo con una base clínica discutible). Estos pacientes son totalmente asintomáticos, salvo en lo que concierne a los datos clínicos derivados de la patología que motivara la ingestión de fármacos. La alteración se pone de manifiesto en un estudio fortuito, remitiéndose con cierta preocupación al especialista ante el temor de una hemopatía

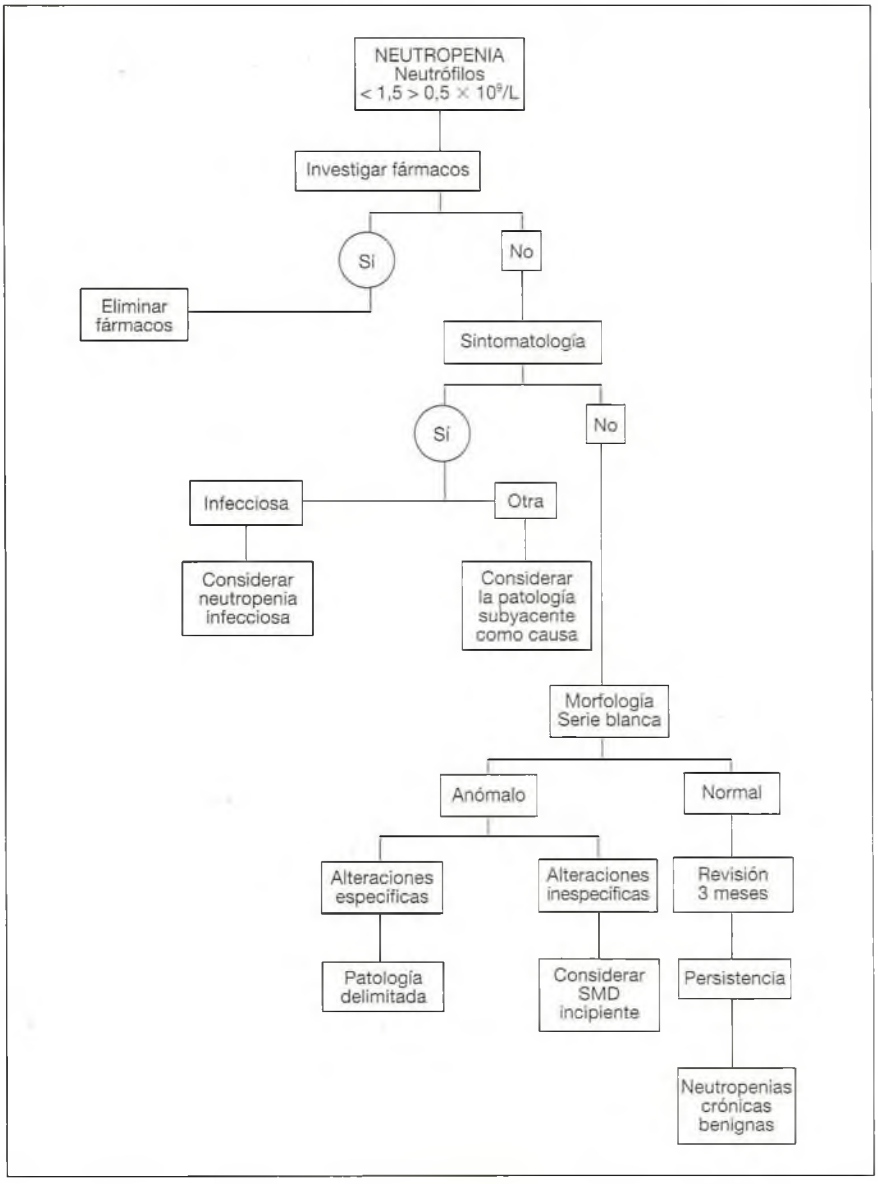


Figura 15.2. Evaluación de una neutropenia.

primaria. Es importante tranquilizar al paciente acerca de la escasa trascendencia clínica de la alteración hematológica, informarle con detalle acerca de la causa del descenso granulocitario y suministrarle la relación de los fármacos con potencial mielotóxico[11,12] (anexo 1). El proceso es impredecible y se produce por una reacción idiosincrásica al fármaco, por supresión directa o por destrucción inmune de los granulocitos o sus precursores.

Neutropenia infecciosa

La presencia de síndrome febril o febrícula asociados a neutropenia es un signo que orienta hacia un proceso infeccioso. Las infecciones que cursan con neutropenia pueden ser de origen bacteriano, viral o parasitario; la linfocitosis puede orientar hacia una viriasis. La valoración de la clínica y el empleo juicioso de las exploraciones complementarias permitirán diagnosticar la mayoría de casos. Debe destacarse el significado pronóstico desfavorable de las neutropenias asociadas a sepsis, ya que suponen el agotamiento del compartimento de reserva medular[8]. En la tabla 15.3 se indican algunos procesos infecciosos en los que se produce leuconeutropenia.

Neutropenia de la infección por VIH

Se ha separado del anterior grupo por su especial importancia. Se produce en un 50% aproximadamente de los pacientes infectados por el VIH. Los mecanismos de producción son varios: alteración de la hematopoyesis, consecuencia de la acción del propio virus, infecciones oportunistas, tumores con afectación medular y como efecto colateral de la terapéutica inmunosupresora. La frecuencia aumenta conforme avanza la enfermedad y con el tratamiento[13].

Neutropenia de las hepatopatías y del hiperesplenismo

La neutropenia puede ser el único signo biológico que oriente hacia una hepatopatía crónica en ausencia de hiperesplenismo. Así pues, en el estudio de cualquier neutropenia no debe faltar un perfil bioquímico y serológico encaminado a detectar la existencia de una afección hepática. El aumento de tamaño del bazo por hipertensión portal, enfermedad

TABLA 15.1

Clasificación fisiopatológica de las neutropenias

Producción disminuida (neutropenias hipoplásicas)
Congénitas (herencia dominante, recesiva, cíclicas, etc.)
Inducidas por fármacos (tratamiento citotóxico, idiosincrasia, etc.)
Granulocitopoyesis ineficaz (los precursores medulares están aumentados, pero se produce una muerte intramedular de granulocitos)
Por carencia de factores nutricionales (B_{12}, fólico, etc.)
Liberación disminuida (liberación reducida de elementos funcionalmente anómalos)
Mielocatexis, síndrome de leucocito perezoso, etc.
Destrucción aumentada o pérdida de neutrófilos
De tipo inmune:
– Idiopática (anticuerpos antineutrófilo)
– Neonatal
– Inducida por fármacos (mecanismo tipo hapteno o «mirón inocente»)
– Asociada con otros procesos (síndrome de Felty, etc.)
Infecciones piógenas graves (aumento de consumo en tejidos y agotamiento del compartimento de reserva)
Seudoneutropenia (desequilibrio entre el compartimento marginal y el circulante con hipermarginación)

Sobre datos de Boggs, 1983[8].

esplénica primitiva o hiperplasia esplénica puede producir neutropenia. De ordinario, esta alteración es moderada y se acompaña de trombocitopenia y anemia, asimismo de intensidad moderada. La supervivencia reducida de los neutrófilos se corresponde con el tamaño del bazo. Cuando es posible, la esplenectomía corrige por completo las alteraciones.

Neutropenia de las mujeres nerviosas

A menudo cursa con dudosos antecedentes medicamentosos. Afecta a mujeres de edad media con sintomatología de agitación, nerviosismo, irritabilidad, insomnio, astenia matutina, alteraciones menstruales y frecuente frigidez. Los estudios realizados son normales, a excepción de la alteración leucocitaria. Es muy probable que en la mayoría de los casos exista un componente de hipermarginación de los neutrófilos. Aunque la evolución de estas pacientes no se conoce con exactitud, parece tratarse de una alteración benigna, aunque crónica[14].

Neutropenia del estrés

Conocida también como neutropenia de los ejecutivos, puede afectar igualmente a los artistas, los opositores o las madres de familia con muchos hijos. La neutropenia es generalmente moderada. Incide en individuos sometidos a grandes tensiones, con marcada fatiga física o intelectual. Al igual que en la anterior, existe probablemente un componente de hipermarginación. La desaparición del cuadro se produce con una mejor higiene de vida y el retorno a una actividad normal con un tiempo suficiente de reposo. No se ha comprobado la relación entre la alteración leucocitaria y la insuficiencia suprarrenal[14].

TABLA 15.2

Clasificación práctica de las neutropenias

Neutropenias de diagnóstico sencillo
Fármacos, productos químicos y radiaciones ionizantes
Infecciones
Virasis
Parasitosis
Bacterianas
Sepsis graves
Endocrinopatías
Hipertiroidismo, hipotiroidismo, hipopituitarismo, Addison, etc.
Carenciales:
Déficit de B_{12}, fólico, hierro, malnutrición, etc.
Hepatopatías e hiperesplenismo
Infiltración medular por células neoplásicas
Leucemia a linfocitos granulares
Síndromes mielodisplásicos
Mujeres nerviosas
Ejecutivos
Neutropenias inmunológicas
Neonatal (isoinmune)
Crónica del adulto (autoinmune)
Complejos inmunes circulantes
Inhibición inmunológica de la granulopoyesis
Lupus eritematoso diseminado
Poliartritis crónica (Felty)
Neutropenias del niño
Sin alteraciones fenotípicas
Agranulocitosis genética infantil (Kostmann)
Disgenesia reticular
Agammaglobulinemia ligada al cromosoma X (Bruton)
Inmunodeficiencia común variable
Mielocatexis
Glucogenosis 1b
Neutropenia cíclica
Con alteraciones fenotípicas
Hipoplasia de cartílago-pelo
Disqueratosis congénita
Síndrome de Barth
Síndrome de Griscelli
Síndrome de Schwachmann-Diamond
Síndrome de Chediak-Higashi

Sobre datos de Dreyfus, 1981[10].

Otros tipos

Una neutropenia asociada a síndrome general inespecífico orienta hacia una endocrinopatía. Generalmente, se trata de neutropenias moderadas, carentes por sí mismas de significación clínica.

Raramente una neutropenia se manifiesta como único dato de un síndrome mielodisplásico incipiente. En estos casos, existen por lo general signos de disgranulopoyesis (hipogranulación, alteraciones nucleares, etc.). Los pacientes con neutropenia y alteraciones morfológicas de los leucocitos deben someterse a controles periódicos.

Neutropenias inmunológicas

La existencia de neutropenias de mecanismo inmunológico se conoce hace bastantes años. El problema que se plantea

TABLA 15.3

Leuconeutropenias asociadas a infecciones

Tipo de microorganismo	Incidencia
Bacterias	
Salmonella	25-50%
Shigella	2%
Brucella	20-30%
Francisela tularensis	Escasa
Tuberculosis	15-25%
Parásitos	
Kala-Azar	Frecuente
Malaria	Frecuente
Rickettsias	75%
Virus	
VIH	40-50%
VEB	Esporádica
CMV	Poco frecuente
Hepatitis	Frecuente
Exantemáticas	Frecuente

CMV: citomegalovirus; VIH: virus de la inmunodeficiencia humana; VEB: virus de Epstein-Barr.

en la práctica es que las técnicas de detección de anticuerpos, al igual que sucede con las de las plaquetas, son complejas, difícilmente reproducibles y solamente al alcance de laboratorios altamente sofisticados, Los neutrófilos son frágiles, tienden a agregarse *in vitro* y liberan enzimas autolíticas. En los pacientes neutropénicos la recuperación de los neutrófilos es escasa, y las células son probablemente más inmaduras; además, pueden tener alteraciones de membrana tras su liberación medular. En la tabla 15.4 se relacionan una serie de métodos dirigidos a detectar anticuerpos antineutrófilos. Dichos métodos permiten detectar tanto los anticuerpos en la superficie del granulocito como los efectos del anticuerpo unido al mismo. En lo que concierne a los primeros, sus resultados son generalmente comparables. Los segundos son más complejos porque requieren granulocitos vivos; posiblemente el más utilizado haya sido la aglutinación, más específico, aunque menos sensible[15,16].

TABLA 15.4

Métodos para detectar anticuerpos antineutrófilo

Detección de inmunoglobulinas en la superficie del neutrófilo
Radioisótopos
– Anti IgG
– Anti IgM
Estafilococos intactos
Inmunofluorescencia
Citometría de flujo
Enzimoinmunoensayo (ELISA)
Detección de los efectos de los anticuerpos
Aglutinación
Opsonización
Activación del complemento
– Anticuerpos frente a C3
– Citotoxicidad
Citotoxicidad dependiente del anticuerpo

Según Shastri y Logue[16].

Neutropenia crónica del adulto

Se trata de un proceso raro en el que se detecta una leucopenia con neutropenia de intensidad variable. Existe un predominio de mujeres (relación V/M 1/2) y, aunque en algunos pacientes la neutropenia es importante, la presentación de infecciones es relativamente infrecuente. En casi la mitad de los casos existen otras citopenias, y en algo más del 10% se aprecia esplenomegalia. La existencia de autoanticuerpos es un hecho controvertido, aunque posiblemente se trate de un problema más relacionado con las técnicas. En un estudio clásico sobre 29 pacientes sólo se demuestran en uno de 16 casos[17]. Más recientemente, se detectan en 19 sobre 41[18] y en el 36% de 121[19]. Algunos casos responden a los corticoides. En los pacientes con infecciones graves y en la cirugía mayor el empleo de G-CSF o GM-CSF es útil; estos fármacos deben prescribirse en los sujetos asintomáticos, que son la mayoría.

Neutropenia crónica benigna de la infancia

También conocida como síndrome de Gasser[20] se describe en niños entre los 6 meses y los 2 años. Generalmente se descubre en el contexto de un cuadro caracterizado por infecciones cutáneas, orofaríngeas y otitis; con menor frecuencia se aprecian infecciones pulmonares graves y gastroenteritis. En ocasiones se detecta fortuitamente. La neutropenia puede ser extrema; la monocitosis es frecuente. El trastorno puede ser debido a una destrucción aumentada de neutrófilos por alteración corpuscular o a la existencia de autoanticuerpos frente a los granulocitos[15]. Por lo general, no precisa un tratamiento especial, aunque en algún caso los esteroides han sido útiles.

Neutropenia neonatal isoinmune

Se caracteriza por la aparición de una neutropenia transitoria durante las primeras semanas de vida. El trastorno se debe al paso transplacentario de un anticuerpo IgG que actúa deteniendo la maduración de los granulocitos. Se trataría del equivalente leucocitario de la eritroblastosis fetal por isoinmunización frente al sistema Rh. Generalmente la sintomatología infecciosa es escasa o ausente, aunque en algún caso puede ser grave. La médula ósea es hiperplásica. Ocasionalmente, se ha conseguido caracterizar el anticuerpo frente a antígenos específicos de los neutrófilos. Generalmente se trata de un proceso autolimitado que no requiere un tratamiento especial. En los raros casos con infecciones graves podría considerarse la plasmaféresis.

Neutropenia neonatal transitoria

Se produce en los hijos de las pacientes con neutropenia autoinmune[3]. Como indica su nombre, se trata de cuadros benignos y autolimitados que cursan de forma asintomática. Es el equivalente en la serie blanca de la trombocitopenia que aparece en los hijos de pacientes con trombocitopenia autoinmune.

Neutropenia de las conectivopatías

En un 50% de los pacientes con lupus eritematoso se observa la existencia de una neutropenia moderada, habitualmente no complicada. En algún caso se ha demostrado la existencia de un anticuerpo inhibidor de la granulopoyesis. La médula generalmente es hipercelular, aunque aisladamente puede aparecer una imagen hipoplásica. El tratamiento inmunosupresor y la plasmaféresis son recursos eficaces.

La aparición de una neutropenia importante, asociada con frecuencia a la existencia de una marcada esplenomegalia se observa en el 1% aproximadamente de los pacientes con artri-

tis reumatoide (AR). La asociación de poliartritis, neutropenia y esplenomegalia se conoce como síndrome de Felty. No es totalmente conocido el mecanismo, aunque se habla de un aumento de destrucción de neutrófilos, acompañado de insuficiencia medular. La esplenectomía es eficaz, aunque debe recomendarse sólo en las formas con sintomatología grave. En los casos moderados la corticoterapia o la administración de inmunosupresores no esteroideos serán suficientes para el control de la enfermedad. La administración de G-CSF o GM-CSF ha sido eficaz en los escasos casos tratados.

Linfocitosis T-gamma

La leucemia de linfocitos grandes granulares (LGG) es un síndrome que cursa con neutropenia inmune. Existe una neutropenia grave y grado variable de LGG. Estos elementos muestran marcadores de superficie de células T citotóxicas/supresoras. En la médula existe una infiltración por LGG y clínicamente moderada esplenomegalia. En estos pacientes se han constatado otras citopenias, como neutropenias cíclicas, aplasia pura de serie roja y trombocitopenia. Aunque el mecanismo no está totalmente aclarado, en algunos casos se han detectado anticuerpos antineutrófilo. La linfocitosis T-γ se asocia con frecuencia a otras enfermedades autoinmunes como la AR y el síndrome de Felty, por lo cual la leucemia a LGG con AR y aquel último serían parte de un único proceso patológico[21]. El empleo de G-CSF es eficaz[22,23].

■ Neutropenias infantiles

En el apartado de neutropenias inmunológicas hemos considerado ya algunas neutropenias infantiles. A continuación estudiaremos sucintamente otros tipos de neutropenias de la infancia que, por lo general, corresponden a entidades muy raras (posiblemente el menos infrecuente sea la neutropenia isoinmune considerada previamente), de diagnóstico en el período neonatal y de forma excepcional al comienzo de la segunda década de la vida (se exceptúa la inmunodeficiencia común variable, que puede detectarse en la edad adulta). Se han agrupado en las tablas 15.5 y 15.6 en función de la ausencia o presencia de alteraciones somáticas. Al igual que en los grupos anteriores, solamente se considerarán algunas entidades.

■ Neutropenias sin alteraciones fenotípicas

Neutropenia congénita o agranulocitosis genética de la infancia

La agranulocitosis genética de la infancia o síndrome de Kostmann[24,25] es un trastorno de herencia autosómica recesiva en el que destaca una neutropenia extrema. En el 50% de los casos se ha comprobado la existencia de una monosomía 7. Desde el punto de vista clínico se caracteriza por la aparición de infecciones (cutáneas, estomatitis y abscesos perirrectales), algunas veces graves, a partir de las primeras semanas de vida. La neutropenia es siempre muy grave (neutrófilos $< 0{,}2 \times 10^9$ L), si bien las cifras totales de leucocitos pueden ser normales; suele existir monocitosis. En la médula se aprecia una detención de la maduración de los elementos mielocitarios con rasgos de disgranulopoyesis, sobre todo vacuolas citoplasmáticas, con depleción marcada de los neutrófilos maduros. Los cultivos *in vitro* demuestran un número adecuado de GM-CFC, si bien la maduración es irregular; cuando se añade G-CSF la maduración es prácticamente normal. Se han identificado mutaciones para el gen del receptor del G-CSF cuyos niveles son normales o elevados. Sin embargo, la elevación de dichos niveles, la normalidad de la unión del G-CSF a su receptor y la normal funcionalidad de la proteína, incluso cuando se detectan mutaciones, indican una mayor complejidad del defecto. Por otra parte, se han detectado igualmente mutaciones del gen de la elastasa de los neutrófilos. En síntesis, cabe presumir que los mecanismos patogenéticos pudieran ser distintos según los casos. La administración de antibióticos prolonga la vida de estos enfermos. Sin embargo, las opciones más eficaces son el trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) y sobre todo el tratamiento con G-CSF[26,27].

Disgenesia reticular

Esta alteración excepcional se produce como consecuencia de un fallo de la célula germinal comprometida[28]. Existe leucopenia con neutropenia y linfopenia extremas. En la médula no se detectan células linfoides y en los ganglios no existen folículos linfoides. La maduración eritrocitaria y plaquetaria son normales. Las inmunoglobulinas están muy descendidas. El único tratamiento es el TPH.

Neutropenia de la hipogammaglobulinemia ligada al cromosoma X

En un tercio de los niños con agammaglobulinemia ligada al cromosoma X (enfermedad de Bruton) se produce neutropenia que agrava los procesos infecciosos propios de esta entidad[29]. Se ha comprobado la existencia de más de 250 mutaciones en el gen que codifica una tirosincinasa (TK) que se conoce como TK de Bruton (BTK). En la médula existe un bloqueo madurativo de los precursores mieloides. Los valores de inmunoglobulinas, especialmente de IgG e IgA, están muy descendidos o ausentes. El tratamiento consiste en la administración de inmunoglobulinas de molécula completa, y en las formas no controlables, TPH.

Inmunodeficiencia común variable

Es probablemente una de las inmunodeficiencias más frecuentes; la sintomatología clínica es muy variable de paciente a paciente[30]. Existe neutropenia ocasionalmente, agravando las manifestaciones infecciosas. La enfermedad se diagnostica en la primera, segunda y aun tercera décadas de la vida, por la existencia de infecciones sinopulmonares recurrentes, acompañadas de descenso muy importante de las inmunoglobulinas, especialmente IgG. Existe una tendencia a la aparición de fenómenos autoinmunes (trombocitopenia, lupus o tiroiditis) y al desarrollo de neoplasias. El tratamiento de elección consiste en la administración de inmunoglobulinas intravenosas. En los casos con neutropenia, el empleo de G-CSF ha sido eficaz.

Mielocatexis

Se trata de una neutropenia moderada con alteraciones morfológicas de los núcleos de los granulocitos[31]. Los neutrófilos presentan vacuolas citoplasmáticas con anomalías nucleares caracterizadas por filamentos muy finos que unen los lóbulos. La médula es hipercelular y contiene granulocitos hipersegmentados degenerados. Los estudios realizados indican una apoptosis aumentada de los granulocitos. Posiblemente exista un defecto de BCL-X. El G-CSF se ha empleado con éxito.

Glucogenosis IB

La glucogenosis I (enfermedad de Von Gierke) es una enfermedad lisosomal de la que se han descrito más de 10 tipos, pero solamente aparece leucopenia en el Ib. Existe un déficit de la enzima glucosa-6-fosfato translocasa que transporta la

TABLA 15.5

Diagnóstico diferencial de las principales neutropenias constitucionales sin alteraciones somáticas

	Herencia	Clínica	Infecciones	Gravedad	Neutropenia	Tratamiento	
Kostmann	AR, Monosomía 7 (50%)	Infecciones graves en el 1.er año de vida	Otitis, neumonitis, abscesos cutáneos o hepáticos	+++	+++	G-CSF, TPH	Mutaciones en el gen del receptor para GCSF
Disgenesia reticular	AR		Candidiasis oral	+++	+++	TPH	TCP, GCSF ineficaz, descenso linfos T y B
ID Ligada al cromosoma X	XL, Xq22		Respiratorias, otitis y sinusitis	++	Variable		Mutación BTK
IDCV	?	Infecciones importantes, 2.ª, 3.ª décadas, autoinmunidad, tendencia neoplasia	Sinopulmonares recurrentes	++/+++	+++	G-CSF	Descenso Ig
Mielocatexis	?	Alt. granulocitos		+	+	G-CSF	
Glucogénesis 1B	AR, 11q23	Déficit deambulación, convulsiones, anemia, hepatomegalia		+	++	G-CSF	Glucosa GT translocasa
Cíclica	AD, 19p 13-3	Úlceras bucales, gingivitis, adenopatías	Fiebre, faringitis	++	Variable en ciclos (2-4 semanas)	G-CSF	Mutación ELA 2 aumento apoptosis

AD: autosómica dominante; AR: autosómica recesiva; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos.

TABLA 15.6

Diagnóstico diferencial de las principales neutropenias constitucionales con alteraciones somáticas

	Herencia	Alteraciones clínicas	Neutropenia	Infecciones	Tratamiento	
Hipoplasia de cartílago-pelo	AR 9p13	Miembros cortos, pelo fino	++/+++	+	G-CSF, TPH	Linfopenia, ID
Disqueratosis congénita	Ligada al X (Xq-28) o AR	Insuficiencia pulmonar, hiperpigmentación reticulada de cuello y tórax superior, hiperhidrosis, caries, talla corta	liso ++	+	G-CSF, TPH	Anemia, TCP
S. Bart	Ligada al X Xq28	Miocardiopatía dilatada, enanismo	+	+	G-CSF	
S. Griscelli	AR; 15q21	Hipopigmentación	++	++		
S. Schwachmann-Diamond	AR	Alt. pancreáticas condrodisplasia, metafisaria (caderas, rodillas, etc.)	++	+	G-CSF, TPH	Hipogammaglobulinemia
S. Chediak	AR; 1q42-45	Albinismo óculo-cutáneo	++/+++ gránulos lisosómicos	++	G-CSF	Anemia, TCP, aumento HbF

AR: autosómica recesiva; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos.

glucosa-6-fosfato al retículo endoplásmico para su conversión en glucosa[32]. De herencia autonómica recesiva, se ha localizado a nivel de 11q23. Cursa con déficit de deambulación, convulsiones, anemia y hepatomegalia. La neutropenia tiene cierto carácter cíclico, aunque no es grave, por lo cual las infecciones son moderadas. El G-CSF es eficaz.

Neutropenia cíclica

La neutropenia cíclica[33,34] es, asimismo, un proceso infrecuente, aunque menos que los anteriores; se transmite de forma autosómica dominante. Se diagnostica por lo general antes de los 10 años, aunque se conocen casos de presentación en la edad adulta. Se caracteriza por la aparición de neutropenia grave cada 3 semanas con variaciones posibles entre las 2 y las 4 semanas. Es posible que se acompañe de procesos infecciosos. La imagen medular es hipercelular con detención madurativa o hipocelular con ausencia de precursores granulocitarios. En las fases libres de enfermedad las anomalías remiten y se normaliza el cuadro hematológico medular. Se ha descrito la existencia de mutaciones en el gen de la elastasa granulocitaria (ELA-2) como alteración molecular y una apoptosis acelerada como mecanismo celular. El tratamiento se centra en la administración de antibióticos y de G-CSF. Este último debe administrarse con tiempo suficiente para que actúe en la fase de neutropenia[34].

Neutropenias con alteraciones fenotípicas

Son todas ellas cuadros infrecuentes asociados con descenso de la cifra de neutrófilos con alteraciones somáticas.

Hipoplasia de cartílago y pelo

Es una forma autonómica recesiva del enanismo de brazos cortos, identificándose el defecto a nivel de 9p13. Se trata de niños de talla y brazos cortos, pelo fino, neutropenia moderada-grave y defectos de la inmunidad celular[35]. Se han detectado mutaciones del gen que codifica el componente RNA de la enzima MRP que procesa dicho RNA[36]. El tratamiento consiste en la administración de G-CSF y TPH.

Disqueratosis congénita

Se caracteriza por hiperpigmentación reticulada de la piel, distrofia ungueal y leucoplaquia de las membranas mucosas. Conocida también como síndrome de Zinsser-Cole-Engman, entre sus alteraciones destaca el retraso mental y de crecimiento, y la disfunción endocrina[37]. Desde el punto de vista hematológico pueden presentar neutropenia, anemia refractaria, trombocitopenia y alteraciones de la inmunidad mediada por células. Su herencia parece estar ligada en la mayoría de casos al cromosoma X (Xq28), aunque se ha referido algún caso en mujeres.

Síndrome de Barth

Es un síndrome de tipo autosómico recesivo ligado al cromosoma X (Xq28). Clínicamente se asocia con miopatía cardioesquelética y neutropenia. Esta última puede ser intermitente y mejorar con la edad. La cardiomiopatía a menudo es fatal[39]. Se ha descrito una mutación de un nuevo gen (G4.5) que codifica un tipo especial de proteínas denominado tafazinas[40].

Síndrome de Griscelli

De herencia autonómica recesiva, el defecto se sitúa a nivel de 15q21. Clínicamente existe albinismo parcial, afectación neurológica progresiva e hipogammaglobulinemia, neutropenia y trombocitopenia. A veces cursa con síndrome hemofagocítico. La neutropenia y las infecciones son de carácter moderado[41]. Se han descrito tres tipos de mutaciones. MYO5A que codifica una miosina, RAB27A que codifica una proteína transportadora de GTP de la familia RAS y del gen que codifica la melanofilina[42,43].

Neutropenia con insuficiencia pancreática exocrina

Esta alteración, conocida como síndrome de Schwachmann-Diamond es de herencia autosómica recesiva. Cursa con condrodisplasia metafisaria, enanismo, insuficiencia pancreática exocrina y neutropenia. Los neonatos afectados pueden presentar diarrea, pérdida de peso, retraso motor, eccema, otitis media y neumonías. La afectación pulmonar es infrecuente, y el pronóstico relativamente favorable. La sintomatología es semejante a la de la fibrosis quística, pero se diferencia de ella por un test de sudor normal[44,45]. Se ha descrito un defecto quimiotáctico parcial y alteraciones de los linfocitos B, T y NK. Algunos pacientes han desarrollado aplasias graves y excepcionalmente leucemia. El tratamiento se basa en G-CSF y TPH.

Síndrome de Chediak-Higashi

El síndrome de Chediak se transmite con carácter autosómico recesivo. El defecto se sitúa a nivel 1q42-45. Clínicamente cursa con infecciones recurrentes, albinismo oculocutáneo parcial y grandes gránulos lisosómicos en las células sanguíneas nucleadas, macrófagos, neuronas y células epiteliales del túbulo renal. Aunque desde el punto de vista hematológico lo más llamativo son los característicos gránulos, un 75% de los pacientes presenta neutropenia[46]. Parece existir un defecto de circulación entre las organelas y las proteínas granulares que llevan a una fusión lisosomal y endosomal inadecuadas [47].

AGRANULOCITOSIS

Etiología

El cuadro clínico fue descrito por Schultz en 1922[48]. Desde entonces ha recibido distintos nombres, entre los cuales cabe destacar los de angina agranulocitósica, leucopenia idiopática maligna e hipoplasia granulocítica.

En 1931 se describió la agranulocitosis inducida por aminopirina y a partir de esta fecha se han detectado múltiples fármacos causantes de agranulocitosis. En el anexo 2 se proporciona una relación de los fármacos en los cuales se ha demostrado una mielotoxicidad frente a los granulocitos. Desde el punto de vista práctico deben tenerse en cuenta por su frecuencia los siguientes grupos: antibióticos, antitiroideos, tranquilizantes, analgésicos/antiinflamatorios no esteroideos, antirreumáticos y sedantes. Es indudable que las asociaciones farmacológicas aumentan la dificultad diagnóstica. En muchos casos el agente o medicamento causante de la agranulocitosis no puede establecerse con seguridad, si bien el número de casos en los que se obtiene el diagnóstico aumenta con la insistencia de la encuesta etiológica.

La agranulocitosis es poco frecuente, no superando los 2 a 3 pacientes por año. En un estudio clásico[49] su incidencia se sitúa para el quinquenio 1973-1977 en $2{,}13 \times 10^5$/año; en otro más reciente, sería de $0{,}94 \times 10^5$/año[50].

Fisiopatología

La agranulocitosis inducida por fármacos obedece a uno de dos mecanismos básicos. El primero de ellos es inmunológico. Tras un período de sensibilización se producen anticuerpos frente al complejo fármaco-proteína leucocitaria (es decir, el fármaco actúa como un hapteno), anticuerpos que van a producir la destrucción del granulocito. El anticuerpo es activo únicamente frente al complejo. En ausencia del fármaco, el anticuerpo permanece en el plasma en forma inactiva. Cuando el sujeto sensibilizado ingiere nuevamente el fármaco, se activa el anticuerpo en la superficie del granulocito. La destrucción de éste se produce: *a*) por leucoaglutinación masiva con secuestración pulmonar de granulocitos y eliminación de éstos de la circulación; *b*) por recubrimiento del granulocito por el anticuerpo y subsiguiente destrucción por los elementos del sistema mononuclear fagocítico, y *c*) por un efecto citotóxico directo de la reacción antígeno-anticuerpo. La imagen medular es hipercelular. El ejemplo clásico de este mecanismo es la agranulocitosis por aminopirina.

El segundo mecanismo se produce por mielotoxicidad directa. El fármaco determina una supresión de la proliferación de las células germinales hematopoyéticas medulares. La imagen medular es hipocelular. El típico ejemplo es la agranulocitosis por fenotiacinas.

Clínica

El cuadro clínico de la agranulocitosis suele ser de instauración brusca con: *a*) fiebre alta de tipo séptico; *b*) fenómenos necróticos en las mucosas, y *c*) neutropenia extrema. Suele existir una alteración importante del estado general con marcada postración, aunque en algunos casos la enfermedad puede ser bien tolerada.

La fiebre traduce un cuadro séptico, aunque el origen de la infección no pueda delimitarse con precisión. Es elevada, continua y se acompaña de escalofríos. Es característica la presencia de úlceras necróticas de color amarillo grisáceo en las mucosas de la región orofaríngea (amígdala, velo del paladar, lengua, etc.), así como en las de la región anal y vaginal (en un agranulocitósico no debe omitirse nunca la exploración perineal). Las lesiones necróticas asientan también a menudo a lo largo del tubo digestivo. Como en estos pacientes la respuesta inflamatoria está alterada por la falta de formación de pus, los signos típicos de infección localizada suelen ser poco aparentes. En algún caso puede incluso llegar a faltar el síndrome febril a pesar de que existe una infección en curso.

Los microorganismos responsables de las complicaciones infecciosas son generalmente los bacilos gramnegativos procedentes del tubo digestivo y los cocos grampositivos de la piel.

Cuadro hemático

Se aprecia leucopenia variable con neutropenia extrema (granulocitos < $0,5 \times 10^9$/L). Los escasos granulocitos suelen mostrar signos degenerativos con granulación tóxica, vacuolas o núcleo picnótico. Los monocitos pueden estar conservados e incluso aumentados, lo que incrementa la mermada respuesta fagocitaria y, en principio, sería un dato pronóstico favorable.

La leucogranulocitopenia es un dato aislado, sin otras citopenias; es decir, la serie roja y las plaquetas son normales. Cuando a lo largo de una agranulocitosis se producen otras citopenias, seguramente es una insuficiencia medular global inducida por fármacos que se estudia en otro lugar (v. Capítulo 14). La velocidad de sedimentación globular (VSG) se halla aumentada.

Cuadro medular

En la médula ósea existen dos patrones: detención o *stop* madurativo con hiperplasia promielocitaria e imagen hipoplásica con plasmocitosis y mastocitosis.

En el primero se aprecia una médula normocelular o hipercelular con ausencia de mielocitos y con notable hiperplasia promielocitaria. Los promielocitos son grandes, a veces poliploides y con refuerzo de la granulación primaria. La posible confusión con una leucemia promielocítica se resuelve con facilidad cuando se realiza la revisión de sangre periférica; por otra parte, los promielocitos son normales. Esta imagen sufre una rápida transformación, ya que en menos de una semana se convierte en una médula mielometamielocitaria. En la segunda semana reaparecen los granulocitos, a veces, con alteraciones morfológicas.

El patrón hipoplásico muestra aplasia granulocítica absoluta con plasmocitosis, mastocitosis y linfocitosis. La conservación de los precursores eritrocitarios y la presencia de megacariocitos en proporción normal la diferencian de la aplasia medular. A veces, la plasmocitosis es tan intensa que puede llegar a plantear dudas con un mieloma no secretor, del cual se diferencia por la ausencia total de serie blanca.

Es discutible el valor pronóstico de ambos patrones, aunque en principio, el primero es más favorable.

Diagnóstico

El diagnóstico de la agranulocitosis es sencillo (fig. 15.3). En primer lugar debe comprobarse la existencia de una cifra de granulocitos < $0,5 \times 10^9$/L. En segundo término, la ausencia de otras citopenias permite la diferenciación con las aplasias medulares; la ausencia de blastosis descarta una leucemia aguda. La punción medular confirma el diagnóstico ante la ausencia de precursores granulocíticos o la detención madurativa promielocitaria sin mielocitos.

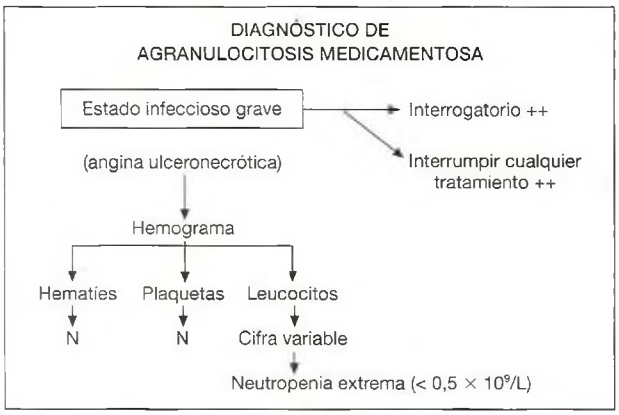


Figura 15.3. Diagnóstico de agranulocitosis medicamentosa.

Pronóstico

El pronóstico de la agranulocitosis depende fundamentalmente de: *a*) un diagnóstico precoz, antes de que la infección incontrolada haya producido lesiones orgánicas de importancia; *b*) la instauración de las medidas terapéuticas adecuadas, y c) la recuperación medular. Es indudable que las nuevas pautas antibióticas han cambiado radicalmente el espectro de la enfermedad, pero todavía siguen falleciendo algunos pacientes porque la lesión medular producida por el fármaco es irreversible.

Desde el punto de vista clínico, los datos pronósticos desfavorables son la existencia de bacteriemia, insuficiencia renal o shock; asimismo, la edad es un elemento pronóstico negativo. Biológicamente, la leucopenia, la linfopenia, la plasmocitosis medular y la disminución de los precursores mieloides son los parámetros que influirán de forma negativa en la evolución del agranulocitósico[52]. En estos casos de mal pronóstico debe valorarse de forma especial la administración de factores de crecimiento hematopoyético[53].

Tratamiento

El enfoque terapéutico será totalmente distinto según se trate de neutropenia no medicamentosa, neutropenia medicamentosa o agranulocitosis. En el primer caso, es necesario realizar un estudio diagnóstico completo, a veces de suma complejidad, al objeto de precisar el cuadro al que corresponde; el segundo exige una anamnesis detallada, una información completa al paciente y, en lo posible, la supresión del fármaco responsable; finalmente, la agranulocitosis precisa una terapéutica reglada realizada dentro de un contexto hospitalario.

Hasta fechas relativamente recientes, no existían tratamientos eficaces para estos procesos. Los corticoides y la adrenalina son capaces de aumentar la cifra de leucocitos y, sobre todo, la de granulocitos, por actuar sobre el compartimento marginal, llevando los leucocitos de éste al circulante, pero careciendo de efecto específico sobre la producción de granulocitos. Esta situación ha cambiado con los factores de crecimiento (CSF), fundamentalmente el G-CSF y, en menor medida, el GM-CSF, ambos capaces de estimular de forma directa su producción, reduciendo el tiempo de neutropenia en los casos agudos y los períodos de granulocitopenia en los crónicos. Por otra parte, en las neutropenias constitucionales su eficacia parece probada en la mayoría de casos (pocos) en los que se ha empleado.

Neutropenias no medicamentosas

Las neutropenias no medicamentosas, hasta fechas muy recientes han carecido de terapéutica, si bien se han empleado tratamientos sintomáticos (antibióticos en los procesos infecciosos importantes) y corticoides (por su efecto demarginador). Los estudios realizados, la mayoría con casuísticas reducidas, habida cuenta la escasa frecuencia con la que se presentan estos cuadros, demuestran que el G-CSF es capaz de normalizar la cifra de granulocitos con desaparición de las manifestaciones clínicas ligadas al descenso de neutrófilos[54]. Fundamentalmente, se han tratado tres grupos de neutropenias: las cíclicas, las graves idiopáticas y las agranulocitosis congénitas. La respuesta terapéutica ha sido muy satisfactoria en la mayoría de los casos en dosis de 3 a 5 µg/kg por vía subcutánea en los dos primeros, y 10 µg/kg en el tercero. El GM-CSF ha sido eficaz igualmente en algunos pacientes con neutropenia crónica.

Aunque la terapia génica solamente se ha empleado en alguna granulocitopatía (enfermedad granulomatosa crónica, déficit de adhesión), es indudable su utilidad teórica cuando se conozcan las alteraciones genéticas responsables de las neutropenias constitucionales graves.

Neutropenias medicamentosas

La neutropenia medicamentosa es una alteración hematológica de presentación frecuente; por tanto, debe tener bien definido el esquema de actuación. Primeramente, debe comprobarse el descenso de granulocitos mediante la repetición del hemograma, en el que no fallará un estudio morfológico de la serie blanca. La anamnesis cuidadosa puede ser claramente orientadora hacia la etiología farmacológica del proceso. Cuando la neutropenia está producida por un fármaco debe recomendarse la supresión inmediata de éste, salvo en aquellos casos en los que sea imprescindible. Otras veces, la encuesta no resulta de utilidad porque el paciente niega la ingestión de fármacos o porque no asimila una determinada sustancia al carácter de medicamento (esto sucede sobre todo con analgésicos o tranquilizantes). Por ello, debe insistirse acerca de este aspecto hasta llegar al convencimiento de la ausencia de patología iatrógena (lo cual sucede en una minoría de casos). En las neutropenias medicamentosas no son necesarios controles periódicos, debiéndose tranquilizar al paciente acerca del dudoso significado clínico de su alteración y la necesidad de ingerir el mínimo de fármacos posible. Puede repetirse el estudio a los 6-12 meses, comprobándose la desaparición de la alteración. La repetición del estudio es imperativa si no ha podido documentarse la ingestión de fármacos, o si éstos carecen de potencial mielotóxico.

Agranulocitosis medicamentosa

Las bases terapéuticas de la agranulocitosis son: suprimir cualquier medicación que no sea absolutamente necesaria, aislar al paciente en la medida de lo posible, administrar antibioterapia empírica y valorar el empleo de factores de crecimiento.

Si el paciente está afebril y aparentemente no infectado (situación poco frecuente en la práctica) es recomendable proceder al aislamiento en ambiente protegido (cámaras estériles, habitaciones de flujo laminar o habitaciones individuales desinfectadas al máximo). Se prohibirán las visitas, y el personal sanitario llevará indumentaria desechable (bata, mascarilla, etc.). Se cuidará al máximo la higiene de las mucosas orofaríngea (incluyendo cepillado dental suave), nasal, anal y vaginal, con antisepsia local de estas zonas varias veces al día. Es conveniente proceder a la esterilización del tubo digestivo mediante la administración de antibióticos no absorbibles.

Si el paciente presenta fiebre (situación habitual) deben realizarse cultivos de sangre, orina y heces, y frotis de pliegues cutáneos, orificios nasales y lesiones sospechosas, con el mismo propósito. Aunque no exista focalidad se iniciará antibioterapia empírica preferentemente con un β-lactámico y amikacina. Un esquema adecuado puede ser la administración intravenosa de ceftacidima (2 g/6 horas i.v.) y amikacina (500 mg/12 horas i.v.). Pueden considerarse como alternati-

vas: monoterapia con β-lactámico antiseudomonas, doble β-lactámico, β-lactámico, aminoglucósido y vancomicina e inhibidores de la β-lactamasa y penicilina semisintética. Si alguno de los cultivos o frotis resultara positivo se ajustará la antibioterapia a la sensibilidad del microorganismo. Si al cabo de 5 días persiste el cuadro febril a pesar de la antibioterapia, se añadirá anfotericina B (liposomal o complejo lipídico)[55]. En fechas recientes se está considerando de nuevo la administración de antibióticos por vía oral[56,57].

Las transfusiones de granulocitos se emplean de forma excepcional. Esta terapéutica ha pasado por tres fases: *a*) una primera de gran ilusión ante la aparición de aparatos capaces de extraer estos elementos en cantidades importantes de un donante voluntario o familiar, e infundirlos al paciente; *b*) en una segunda y, tras estudios aleatorizados, se desecharon ante los dudosos resultados obtenidos, y *c*) finalmente, en los últimos tiempos la estimulación de los donantes con G-CSF permite obtener mayores cantidades de granulocitos y, por ello, se consideran de forma excepcional en infecciones graves localizadas (neumonías, celulitis)[58]. A pesar de todo, la transfusión de granulocitos sigue siendo una terapéutica excepcional en nuestro medio.

Es dudoso que los corticoides beneficien a estos pacientes. Las presuntas acciones de estimulación de la leucopoyesis y bloqueo del mecanismo inmunoalérgico no están probadas, y la acción demarginante carece de sentido por la ausencia de granulocitos. Finalmente, la acción inmunosupresora puede resultar perjudicial, en este caso, porque potencia las infecciones en un paciente desprovisto de granulocitos e incapaz de defenderse adecuadamente.

El carbonato de litio en dosis de 900 mg/día incrementa, asimismo, la producción de granulocitos; sin embargo, su eficacia es dudosa.

El G-CSF se ha administrado con excelentes resultados en la agranulocitosis medicamentosa, obteniéndose una recuperación medular más rápida y acortando, por tanto, el período de hospitalización; sin embargo, en algún estudio aleatorizado la mortalidad es similar[59]. La dosis empleada ha sido por término medio 5 μg/kg[60].

Sin embargo, el factor que más ha contribuido al cambio del pronóstico de la agranulocitosis ha sido la aparición de antibióticos de gran eficacia (cefalosporinas de tercera generación, etc.).

La recuperación medular se produce en unos 14 días. Constituye un dato de mal pronóstico la persistencia de la agranulocitosis tras este plazo.

Es fundamental no administrar de nuevo el fármaco que originó la agranulocitosis ni preparados de la misma familia. Es imprescindible consultar la composición de cualquier fármaco antes de prescribirlo en un paciente que ha sufrido un episodio de agranulocitosis. Asimismo, no debe intentarse la confirmación del fármaco responsable, administrándolo de nuevo, porque puede desarrollarse un segundo episodio cuyas consecuencias serían imprevisibles.

Para prevenir al máximo la aparición de nuevos episodios (no es infrecuente la observación de casos con episodios repetidos de agranulocitosis producida por el mismo fármaco) debe informarse ampliamente al paciente y a sus familiares acerca de la causa de la agranulocitosis y la absoluta necesidad de evitar en el futuro la ingestión del fármaco que la motivó. Esto es especialmente importante porque el paciente una vez recuperado puede pensar que el trastorno no ha de volver a producirse, cuando precisamente la situación es totalmente la contraria.

Por último, y tal vez de forma algo especulativa, cabe pensar que en un futuro próximo los progresos en los sistemas de expansión *in vitro* de las células germinales hematopoyéticas permitan obtener grandes cantidades de estos elementos para su aplicación clínica en las agranulocitosis medicamentosas tanto en pacientes neoplásicos como no neoplásicos[61].

SÍNTESIS FINAL

La importancia práctica de las neutropenias y agranulocitosis puede resumirse como sigue: *a*) las neutropenias son de presentación frecuente; *b*) la etiología habitual es la medicamentosa; *c*) el apoyo del médico a través de la pertinente información al paciente y a sus familiares es fundamental; *d*) el tratamiento consiste simplemente en suprimir el fármaco (o fármacos) incriminado; *e*) su trascendencia clínica es escasa; *f*) la agranulocitosis es mucho menos frecuente, pero más grave; *g*) la fiebre y angina necrótica (o fenómenos necróticos mucosos) unidos a la neutropenia extrema son los datos diagnósticos más importantes; *h*) la supresión del fármaco causante y la antibioterapia son las claves del tratamiento, e *i*) finalmente, aunque la eficacia del G-SCF está demostrada, no queda claro si repercute en una reducción de la mortalidad.

Agradecimiento

Al Servicio de Farmacia Hospitalaria del Hospital Miguel Servet por la elaboración de los anexos 1 y 2.

BIBLIOGRAFÍA

1. Woessner S, Florensa L. La citología óptica en el diagnóstico hematológico, 4.ª ed. Madrid: Acción Médica y FEHH, 2000; 214-220.
2. Watts RG. Neutropenia. En: Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP. Rodgers GM, eds. Wintrobe's clinical hematology (10.ª ed.). Baltimore: Williams Wilkins, 1999; 1862-1888.
3. Cunnette JT, Boxer LA. Disorders of granulopoiesis and granulocytic function. En: Nathan DG y Oski FA (eds.). Pediatric hematology, 3.ª ed. Filadelfia: Saunders, 1987; 797-847.
4. Bessman JD. Automated blood counts and differentials: a practical guide. Baltimore: John Hopkins, 1986; 5-6.
5. Statland BE, Winkel P. Physiological variability of leukocytes in healthy subjects. En: Koepke JH, ed. Differential leukocyte counting. College of American Pathologists 1978; 23-37.
6. Metcalf D. Control of granulocytes and macrophages: molecular, cellular and clinical aspects. Science 1991; 2:529-533.
7. Pitrak DL. Effects of granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on the bactericidal functions of neutrophils, Curr Opin Hematol 1997; 4:183-190.
8. Boggs DR, Winkelstein A. White blood manual, 4.ª ed. Filadelfia: Davis, 1983; 29-59.
9. Franco E, Gimeno J, Giraldo P, Cortés T, Rubio-Félix D, Giralt M. Valoración de los motivos de remisión de pacientes a consultas externas de hematología por alteraciones hemoperiféricas inespecíficas. An Hosp M Servet 1993; 6:61-67.
10. Dreyfus B. Neutropénies durables. N Rev Fr Hematol 1981; 23:43-60.
11. Micromedex®.http://mdxsefh.gpm.es/mdxcgi/cgidict.exe?SRCHTERM=leukopenia&CTL=E:\Proyectos\mdxsefh\mdxcgi\MEGAT.SYS&SYS=1&SET=1C4B5D61AFC64960&SOF=1&SCNT=378&QUAL=35&PAGE=3 (consultado 22/09/04).
12. Micromedex®.http://mdxsefh.gpm.es/mdxcgi/cgidict.exe?SRCHTERM=agranulocitosis&CTL=E.\Proyectos\mdxsefh\mdxcgi\megat.

CAPÍTULO 16

Síndromes mieloproliferativos crónicos. Policitemia vera y trombocitemia esencial

C. Besses y J. Sans-Sabrafen

ÍNDICE

Introducción
Policitemia vera
- Etiopatogenia
- Manifestaciones clínicas
- Datos de laboratorio
- Diagnóstico
- Diagnóstico diferencial
- Evolución
- Tratamiento
- Estrategia general
- Pronóstico

Trombocitemia esencial
- Concepto y etiopatogenia
- Manifestaciones clínicas
- Datos de laboratorio
- Diagnóstico
- Diagnóstico diferencial
- Evolución
- Tratamiento
- Estrategia general
- Pronóstico

Bibliografía

INTRODUCCIÓN

El concepto de síndrome mieloproliferativo crónico (SMPC) engloba un conjunto de entidades hematológicas con características clínicas y evolutivas muy afines, y de etiopatogenia probablemente común. Son procesos caracterizados por la expansión clonal de una célula hematopoyética pluripotente, que dan como resultado una hipercelularidad medular con predominio de una línea específica y se hallan sujetos a evolución clonal, que incluye la transformación a leucemia aguda. El concepto de SMPC fue acuñado en 1951 por William Dameshek, quien sugirió dicha agrupación basándose en las similitudes clinicopatológicas de diversos procesos crónicos caracterizados por la proliferación mieloide de elementos diferenciados. Los SMPC comprenden cuatro entidades: la leucemia mieloide crónica, la mielofibrosis idiopática, la policitemia vera y la trombocitemia esencial. La agrupación de todas estas entidades bajo el concepto de SMPC tiene, ante todo, un sentido clínico. Se trata de procesos de evolución crónica, con hipercelularidad medular, habitualmente esplenomegálicos, que suelen cursar con recuentos hemáticos aumentados (eritrocitosis, leucocitosis, trombocitosis) en proporción y predominio variable según la entidad de que se trate, frecuente eosinofilia y basofilia, hematopoyesis extramedular, tendencia a desarrollar fibrosis, alteraciones de los cromosomas 1, 8, 9, 13 y 20, complicaciones trombóticas y/o hemorrágicas y potencial transformación aguda. En ocasiones, su expresión en cuadros frontera, con manifestaciones o características superponibles, dificulta su encasillamiento en una enfermedad concreta; en tal caso, es precisamente útil el concepto sindrómico, que autoriza, por lo menos, a catalogar a un determinado enfermo dentro del mismo. Esto permite presagiar sus posibilidades evolutivas y adoptar una actitud terapéutica, a menudo común. Aunque raramente puede asistirse al paso de una a otra entidad, este tipo de evoluciones refleja, en realidad, las distintas etapas de una misma enfermedad más que un auténtico cambio de entidad clínica. La clasificación actual de los SMPC según la OMS se detalla en la tabla 16.1.

TABLA 16.1

Clasificación de los SMPC según la OMS

- Leucemia mieloide crónica (cromosoma Filadelfia, t(9;22)(q34;q11), BCR/ABL positiva)
- Leucemia neutrofílica crónica
- Leucemia eosinofílica crónica (y síndrome hipereosinofílico)
- Policitemia vera
- Mielofibrosis idiopática crónica (con hematopoyesis extramedular)
- Trombocitemia esencial
- Enfermedad mieloproliferativa inclasificable

En el presente capítulo se describen la policitemia vera y la trombocitemia esencial, dos entidades con numerosas semejanzas en sus manifestaciones clínicas y evolutivas. La leucemia mieloide crónica y la mielofibrosis idiopática se describen en el Capítulo 17.

POLICITEMIA VERA

Etiopatogenia

Al igual que el resto de SMPC, la policitemia vera (PV) es el resultado de la proliferación anormal de una célula madre pluripotente, que da lugar a una hematopoyesis clonal de hematíes, granulocitos y plaquetas, predominando, con mucho, la hiperplasia eritroide sobre el resto de líneas hematopoyéticas. El potencial proliferativo no parece afectar a los progenitores de células T y NK.

Los primeros estudios de clonalidad en la PV se llevaron a cabo por Adamson y Fialkow en 1976, a través del estudio de las isoenzimas de la glucosa 6-fosfato-deshidrogenasa en dos mujeres negras heterocigotas para la enzima, demostrándose que los hematíes, los granulocitos y las plaquetas tenían la misma isoenzima, mientras que los fibroblastos cutáneos tenían dos tipos, lo que se interpretó como demostración de clonalidad y de su origen en una célula madre hematopoyética pluripotente. Análisis posteriores, utilizando diversas técnicas moleculares de estudio de la clonalidad, señalan que el 60-80% de pacientes con PV presentan un patrón clonal en los granulocitos, y policlonal en los linfocitos T, de forma similar a lo que ocurre en la trombocitemia esencial[1].

Las colonias formadoras de unidades eritroides (CFU-E) normales requieren eritropoyetina (Epo) para preservar su papel esencialmente progenitor frente al mecanismo abortivo de la apoptosis. En los cultivos *in vitro* de progenitores hematopoyéticos de pacientes con PV, si bien se ha demostrado hipersensibilidad de los progenitores eritroides a la acción de la eritropoyetina, se ha evidenciado, asimismo, una capacidad de formación de colonias Epo-independientes. Se han observado, también, valores elevados de proteína Bcl-x_L, inhibidora de la apoptosis, lo que podría explicar el porqué estas colonias pueden sobrevivir sin eritropoyetina[2]. Por el contrario, las colonias eritroides de sujetos normales o afectados de eritrocitosis secundaria, expresan valores de proteína Bcl-x_L muy disminuidos o ausentes. Adicionalmente, se ha constatado que el receptor de la trombopoyetina (c-Mpl) se halla también disminuido, circunstancia que sugiere que la proliferación y diferenciación de los megacariocitos en la PV es independiente de la trombopoyetina[3]. Se trata, pues, de una situación análoga a la de la eritropoyetina y las CFU-E. Por todo ello, cabe considerar que la PV se origina a partir de la proliferación anómala de una célula madre pluripotente que adquiere así diversas alteraciones genéticas, entre las que cabe incluir las que afectan a la trombopoyetina y al sistema Bcl-2. La hipersensibilidad a los factores de crecimiento y citocinas (IL-3, Epo, GM-CSF, IGF-1) de los progenitores eritroides representa, probablemente, otra de las alteraciones implicadas. Otro factor posiblemente implicado en la patogenia de la PV es el gen *PRV-1*, que codifica un receptor de superficie celular de la familia de proteínas uPAR/Ly6/CD59 y que es idéntico al *NB1/CD177*. En la PV, y a diferencia de las eritrocitosis secundarias, se expresa mucha más cantidad de RNA mensajero de este gen, sin que se modifique la cantidad de proteína expresada en la membrana respecto a controles normales. Por tanto, sólo la cuantificación del RNAm de *PRV-1* por RT-PCR cuantitativa en los granulocitos puede utilizarse con fines diagnósticos y de investigación[4].

Manifestaciones clínicas

La incidencia de la PV oscila entre 0,8 y 2,3 casos/100.000 habitantes y año. La mediana de edad en el momento del diagnóstico es de 60 años para los varones y de 62 años en el sexo femenino. La relación varón/mujer es de 1,2:1, a diferencia de la poliglobulia espúrea, que es un trastorno casi exclusivamente masculino. El 4% del total de pacientes tienen menos de 40 años, el 25%, entre 40 y 59 años, el 30% entre 60 y 70 años, y el 41% son mayores de 70 años[5]. Aproximadamente, el 15-25% se diagnostican de forma casual a consecuencia de un análisis de rutina. El 0,4% de los sujetos con PV tienen historia familiar de la enfermedad.

La mayoría de las manifestaciones clínicas de la PV son una consecuencia directa de la proliferación excesiva de las diversas líneas celulares hematopoyéticas que participan en el proceso neoplásico. Los pacientes con PV sintomática pueden presentar astenia, cefaleas, adelgazamiento, molestias epigástricas, prurito y gota. La exploración física evidencia un paciente con aspecto pletórico, inyección conjuntival, cianosis rojiza de piel y mucosas, esplenomegalia e hipertensión arterial. Esta última se halla relacionada con la expansión sanguínea, pero también con el efecto de interferencia que un hematocrito aumentado ejerce sobre los efectos vasodilatadores del óxido nitroso[6]. En la tabla 16.2 se detallan los signos y síntomas más frecuentes descritos en la PV, recopilados de diversas series[7].

Las *complicaciones trombóticas* son las principales causas de morbilidad y mortalidad en los pacientes con PV. La experiencia del Grupo Italiano de Estudio de la Policitemia Vera sobre más de 1.200 pacientes es sumamente ilustrativa al respecto[8]. El 14% presentaron trombosis antes del diagnóstico, y el 20% como primera manifestación de la enfermedad. Las trombosis arteriales representaron dos tercios del total de trombosis (las venosas, un tercio), y el ictus y el accidente isquémico transitorio (AIT) constituyeron el 70% de las trombosis arteriales al diagnóstico. La mayoría de trombosis previas al diagnóstico se observaron principalmente dos años antes del mismo, correspondiendo en general a infarto agudo de miocardio (IAM) y accidente cerebrovascular isquémico. Asimismo, durante el seguimiento clínico, las trombosis arte-

TABLA 16.2

Signos y síntomas en la policitemia vera

Síntomas	(%)	Signos	(%)
Cefaleas	41-48	Plétora	65-84
Astenia	35-47	Inyección conjuntival	28-59
Molestias epigástricas	23-50	Esplenomegalia	50-81
Mareo	25-43	Hepatomegalia	31-50
Alteraciones visuales	19-31	Hipertensión	23-50
Disnea	23-34	Úlceras cutáneas	2
Prurito	14-43		
Sudoración	33		
Adelgazamiento	16-29		
Parestesias	29		
Ángor	16-23		
Gota	4-26		
Epistaxis	17		

Tomada de la referencia bibliográfica 7.

riales fueron más frecuentes (50%) que las venosas (38%), siendo el IAM y el AIT las complicaciones arteriales más frecuentes. El IAM y la trombosis cerebral fueron responsables del 81% de las trombosis mortales. La incidencia de trombosis durante el seguimiento fue de 3,4%/año (la historia de trombosis fue predictiva de un segundo episodio trombótico) y la mortalidad global fue de 2,9/100 pacientes y año. La mortalidad de los que recibieron quimioterapia fue 3-4 veces superior a la de los que no fueron tratados con mielodepresores. El 69% de los enfermos entre 40 y 60 años y más del 90% de los de menos de 40 años vivieron más de 15 años[8].

Las trombosis arteriales inciden fundamentalmente en la circulación cerebral, coronaria y arterial periférica. Las trombosis venosas asientan con mayor frecuencia en las venas profundas de las extremidades inferiores, pudiéndose complicar en este caso con embolismo pulmonar, pero también pueden aparecer en territorios como las venas esplénica, hepática o mesentéricas. Una complicación trombótica especialmente grave es el síndrome de Budd-Chiari, debido a la oclusión de la vena hepática o de la vena cava inferior, que ocasiona hipertensión portal y cursa con dolor abdominal, hepatoesplenomegalia, ascitis, edemas en extremidades inferiores, ictericia y distensión de las venas abdominales superficiales. Se calcula que la PV representa el 10% de las causas de Budd-Chiari y, por tanto, ante este síndrome, debe procederse siempre a descartar la presencia de un síndrome mieloproliferativo latente. En esta circunstancia, los cultivos *in vitro* de progenitores circulantes eritroides y megacariocíticos pueden ser de gran ayuda para establecer dicho diagnóstico al evidenciarse crecimiento endógeno (v. más adelante).

Otras manifestaciones vasculares en la PV son la eritromelalgia, la isquemia digital con pulsos palpables y las tromboflebitis. La eritromelalgia y su patogenia se describe con detalle en el apartado de la trombocitemia esencial.

Los *factores de riesgo de complicaciones vasculares* en la PV incluyen parámetros clínicos y de laboratorio. El hematocrito es el principal determinante de la aparición de complicaciones vasculares. Un hematocrito aumentado incrementa el riesgo trombótico, al aumentar la viscosidad sanguínea en los grandes vasos. El flujo sanguíneo periférico disminuye a medida que el hematocrito aumenta, y por ello, siempre debe mantenerse en la PV por debajo de 0,45 L/L. Aparte de la estasis que provoca la eritrocitosis, ésta activa la célula endotelial aumentando la liberación de factor Willebrand, activa las plaquetas incrementando la producción de tromboxano y sobreexpresando la P-selectina, y aumenta la elastasa de los neutrófilos y la producción de proteínas adhesivas que interaccionan con las plaquetas y el endotelio[9]. No existe una evidencia absoluta respecto a una relación directa entre la cifra de plaquetas y el riesgo trombótico; no obstante, la recomendación más consensuada en los pacientes de alto riesgo aboga por situar la cifra de plaquetas por debajo de 400×10^9/L[10].

Los principales factores clínicos implicados en el riesgo trombótico son: la edad de más de 65 años y una historia previa de trombosis[11]. Los pacientes de más de 70 años presentan una incidencia de episodios trombóticos tres veces superior respecto a los de menos de 40 años; es decir, en estos últimos la incidencia es de 1,8 episodios trombóticos/paciente/año y en los de más de 70 años es de 5,1/paciente/año. Los enfermos con alto requerimiento de flebotomías identifican también a pacientes de mayor riesgo, pues presentan una mayor incidencia de trombosis[10].

Las *complicaciones hemorrágicas* son frecuentes en la PV, pues el 30-40% de pacientes presenta algún tipo de manifestación hemorrágica durante el curso de la enfermedad[12]. Las hemorragias gastrointestinales, sobre todo, a partir de una úlcera péptica (mayor incidencia en la PV), son las más frecuentes. Tampoco son infrecuentes las hemorragias por varices esofágicas debidas a hipertensión portal, y las hemorragias cerebrales. La hemorragia representó el 2,6% de las causas de mortalidad en el estudio italiano[8]. La predisposición a la hemorragia se atribuye, en parte, a las alteraciones cualitativas plaquetarias, que pueden acentuarse por la administración de antiagregantes y/o antiinflamatorios. Una situación propensa a presentar fácilmente complicaciones hemorrágicas es la cirugía, fundamentalmente, cuando la enfermedad no se halla controlada (v. apartado «Cirugía y policitemia vera»).

El prurito generalizado es un síntoma que se manifiesta en la mitad de pacientes y que puede provocarse o exacerbarse después de la ducha o el baño (prurito hidrogénico). Se ha descrito algún caso en el que este síntoma ha precedido hasta en 5 años el diagnóstico de la enfermedad. El ataque de prurito puede llegar a ser intolerable y causar un profundo malestar psicológico al paciente. La respuesta de algunos pacientes a los antihistamínicos sugiere una posible relación de la hiperhistaminemia y de la alteración del metabolismo de la histamina en la patogenia del prurito.

Datos de laboratorio

El dato más destacado es el gran aumento de la cifra de hematíes, que suele superar los 6×10^{12}/L. A pesar de la microcitosis existente, la concentración de hemoglobina se halla también muy elevada, superando en ocasiones cifras de 200 g/L. Un hematocrito superior a 0,60 L/L se detecta en algo más del 50% de pacientes. Cabe recordar que el hematocrito es el mejor indicador biológico para valorar una eritrocitosis, pues indica la situación hemorreológica del paciente, ya que si existe ferropenia, la concentración de hemoglobina es proporcionalmente más baja comparada con

la del hematocrito. De forma ideal, éste debería medirse por centrifugación, debido a que los contadores electrónicos calculan el hematocrito utilizando el número de hematíes y el volumen corpuscular medio (VCM). Si los hematíes son microcíticos, puede infravalorarse[13]. Las anomalías morfológicas eritrocitarias, como la microcitosis y la hipocromía, se deben al déficit de hierro. En los pacientes que siguen un régimen de flebotomías, suelen advertirse signos morfológicos regenerativos como anisocitosis y policromasia.

Dado que se trata de una panmielosis, la mayoría de pacientes con PV, además de cursar con un hematocrito aumentado, presentan leucocitosis y trombocitosis. La fórmula leucocitaria suele tener un incremento en la proporción de basófilos (2/3 de los pacientes tienen más del 3% de basófilos) y presencia ocasional de formas granulocitarias inmaduras. La cifra de plaquetas es superior a 500×10^9/L en el 40-50% de sujetos, y puede superar 1.000×10^9/L en el 10% de casos.

En el momento del diagnóstico, el *mielograma* es hipercelular, con una hiperplasia de las series eritroide, granulocítica y megacariocítica. Esta acusada hiperplasia de las tres series, común en los síndromes mieloproliferativos crónicos, resulta útil en el diagnóstico diferencial entre PV y otras formas secundarias de eritrocitosis. La población eritroblástica, de morfología normal, domina porcentualmente a la proliferación granulopoyética. Como existe una ferropenia por hiperconsumo, con la tinción de Perls se advierte una disminución o ausencia de los sideroblastos y una disminución o desaparición de la hemosiderina de los macrófagos medulares, hecho que se detecta en el 95% de pacientes en el momento del diagnóstico. Desde el punto de vista citoquímico, destaca un importante aumento de las fosfatasas alcalinas granulocíticas (FAG), cuyo índice suele hallarse por encima de 100. Este dato es muy útil en el diagnóstico diferencial con las eritrocitosis secundarias[14].

La *biopsia medular* acostumbra a ser hipercelular; el 85% de los casos presenta más del 60% de celularidad, y sólo el 13% muestra una celularidad normal. La tinción para reticulina es normal inicialmente en el 64% de los pacientes, en el 25% se aprecia un incremento mínimo, y en el 11%, moderado/intenso. La histología se caracteriza por una proliferación trilínea (panmielosis); los megacariocitos son de tamaño gigante o grande, con núcleos hiperlobulados y escasas anomalías madurativas, y forman agrupaciones (*clusters*).

En ocasiones, las pruebas básicas de hemostasia pueden estar alteradas. El elevado hematocrito determina una proporción inferior de plasma, y las pruebas de coagulación resultan artefactadas por este motivo. La concentración sérica de vitamina B_{12} está elevada en el 40% de casos, y la de sus proteínas transportadoras, las transcobalaminas, en el 70%. La hiperuricemia es un hallazgo muy frecuente. La lactodeshidrogenasa (LDH) también puede observarse aumentada. Un dato que se debe tener en cuenta es que cuando la PV evoluciona a metaplasia mieloide pospolicitémica, la concentración de LDH aumenta considerablemente, a diferencia del colesterol sérico, que desciende a valores inferiores a la normalidad. La ferritina sérica se halla frecuentemente disminuida[15].

La *eritropoyetina* está disminuida o normal, y es más alta en los pacientes tratados con flebotomías y/o quimioterapia, por lo que es importante determinarla antes de cualquier tratamiento. Mossuz demostró que la determinación de Epo permitió un diagnóstico de PV directo y 100% específico en el 66% de pacientes en el momento del proceso diagnóstico. En dicho estudio, los valores más altos de hemoglobina, hematocrito y citemia se correlacionaron con los valores más bajos de Epo. Asimismo, en el grupo de pacientes con eritrocitosis secundarias, el 97% presentaba valores por encima del límite inferior de la normalidad[16]. La determinación de la Epo debería ser, por tanto, una de las primeras valoraciones diagnósticas en el diagnóstico diferencial de una eritrocitosis absoluta. La tabla 16.3 propone la clasificación fisiopatológica de las eritrocitosis según Cazzola[17].

TABLA 16.3

Clasificación fisiopatológica de las eritrocitosis

	Producción de eritropoyetina
Eritrocitosis absoluta (aumento de masa eritrocitaria)	
Trastornos genéticos	
Policitemia familiar congénita (mutación gen receptor Epo)	N/D
Policitemia Chuvash (mutación gen VHL)	A
SMPC	
Policitemia vera	D/N
Trastornos secundarios con producción de Epo apropiadamente aumentada	
Disminución de la cantidad de O_2 (gran altitud, enfermedad pulmonar, cardiopatías congénitas), síndrome de la apnea del sueño, carboxihemoglobina)	A
Disminución de la liberación de O_2 (hemoglobinopatías de alta afinidad, déficit bisfosfoglicerato)	A
Trastornos secundarios con producción de Epo inapropiadamente aumentada	
Hipoxia tisular local (estenosis arteria renal, riñón poliquístico)	A
Eritrocitosis postrasplante renal	A
Hepatitis aguda	A
Tumores productores de Epo (tumor de Wilm's, carcinoma renal, hepatoma, hemangioblastoma cerebeloso)	A
Eritrocitosis relativa (masa eritrocitaria normal)	
Eritrocitosis marginal (Hb > 95% percentil)	N
Eritrocitosis de estrés (síndrome de Gaisböck)	N
Deshidratación	N

A: aumentada; N: normal; D: disminuida.
Tomada de la referencia 17.

Las *alteraciones citogenéticas* se detectan por citogenética convencional en el 15-20% de enfermos en el momento del diagnóstico[18]. La técnica FISH es especialmente útil en la detección de reordenamientos del cromosoma 9. Las anomalías clonales por orden de frecuencia afectan a los cromosomas 9p, del(20q), + 8, 13q, 1q y cromosomas 5 y 7[19]. A los 10 años del diagnóstico, la incidencia de alteraciones citogenéticas puede ser superior al 80%, sobre todo en los pacientes tratados con quimioterapia[18].

Los *cultivos in vitro de progenitores hematopoyéticos* de médula ósea o de sangre periférica que contienen suero como medio de cultivo demuestran crecimiento de colonias eritroides en ausencia de Epo exógena en más del 90% de pacientes, fenómeno denominado crecimiento endógeno o espontáneo. Este fenómeno es especialmente útil para diferenciar la PV de otras eritrocitosis secundarias, en las que, de forma constante, no se observa tal hecho[20]. En cultivos sin suero (*serum-free*) los progenitores eritroides BFU-E necesitan factores de crecimiento, pero muestran hipersensibilidad a diversas citocinas, como la Epo, IGF-1, IL-3 y GM-CSF. En general, el crecimiento espontáneo de colonias tampoco se presenta en las policitemias congénitas y familiares primarias, aunque en estos pacientes se observa hipersensibilidad de los progenitores a la Epo[21]. En definitiva, los cultivos *in vitro* son muy útiles en el diagnóstico de la PV en los pacientes que no cumplen todos los criterios diagnósticos requeridos y en determinadas situaciones clínicas, como, por ejemplo, una trombosis esplácnica, que puede ser la primera manifestación de una PV silente.

Diagnóstico

En la práctica clínica, la valoración de una eritrocitosis es el primer paso en el diagnóstico de una posible PV. El parámetro de laboratorio que hay que evaluar debe ser el hematocrito, pues existe una mejor correlación entre éste y la masa eritrocitaria (citemia), que entre la hemoglobina y la citemia. En primer lugar, deben definirse para cada población los valores de referencia del límite alto de normalidad del hematocrito. Según Pearson, éstos se sitúan en 0,51 L/L y en 0,48 L/L para varones y mujeres, respectivamente[22]. Un hematocrito aumentado siempre debería confirmarse antes de proceder a más exploraciones complementarias. Desde el punto de vista técnico, la medición del hematocrito venoso debería practicarse con la mínima oclusión en la extracción, en decúbito y después de 30 minutos de descanso[13]. Una vez confirmado el aumento, se procede mediante métodos isotópicos a la medición de la masa eritrocitaria o citemia utilizando ^{51}Cr, y del volumen plasmático con albúmina marcada con ^{125}I. La definición actual de una *eritrocitosis absoluta* o masa eritrocitaria aumentada, es la de una citemia que excede en más del 25% el valor normal calculado para el paciente, pues el 98 y el 99% de los varones y mujeres, respectivamente, tienen valores dentro del ± 25% del valor normal calculado para un individuo. El resultado con los métodos isotópicos no debe expresarse en mL/kg, pues el Comité Internacional de Estandarización en Hematología recomienda hacerlo a través de una fórmula basada en la superficie corporal y derivada de la talla y el peso, que calcula el valor normal para cada individuo. De esta forma, se evita el posible error en la interpretación de la normalidad al expresarlo en mL/kg en pacientes obesos, en los que al tener más tejido adiposo y, por tanto, avascular, tienen valores algo inferiores a los de los sujetos no obesos.

No existe una relación lineal entre el hematocrito y la masa eritrocitaria, a causa de la expansión del volumen plasmático y, sobre todo, cuando existe esplenomegalia, por lo que un hematocrito aparentemente «normal» puede no ser normal en la PV[9]. La única forma de diagnosticar con certeza una eritrocitosis absoluta es mediante la práctica de un estudio isotópico de volúmenes: citemia (^{51}Cr), plasmemia (^{125}I-albúmina) y volemia. Debe recordarse, y con criterios prácticos, que un varón con un hematocrito superior a 0,60 L/L y una mujer con un hematocrito superior a 0,56 L/L siempre tienen una eritrocitosis absoluta y, por tanto, no requieren la determinación de la masa eritrocitaria. La *eritrocitosis relativa* se define como un incremento del hematocrito causado por una disminución del volumen plasmático, con una citemia con valores normales. En la figura 16.1 se muestra un algoritmo diagnóstico de las eritrocitosis basado en el hematocrito y la citemia, y en la figura 16.2, un algoritmo diagnóstico basado en la determinación de la eritropoyetina[23].

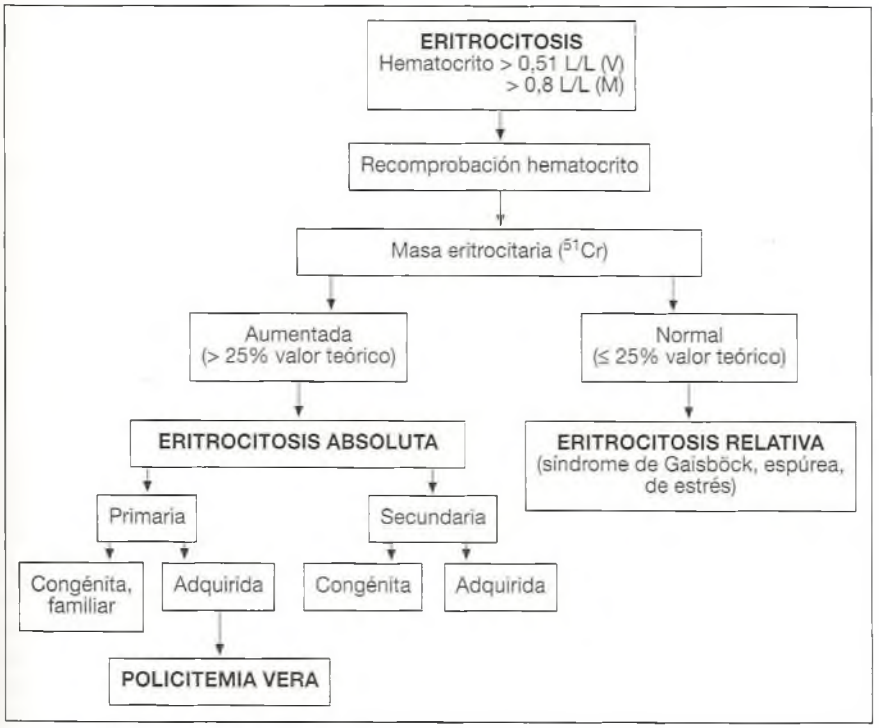


Figura 16.1. Orientación diagnóstica de las eritrocitosis.

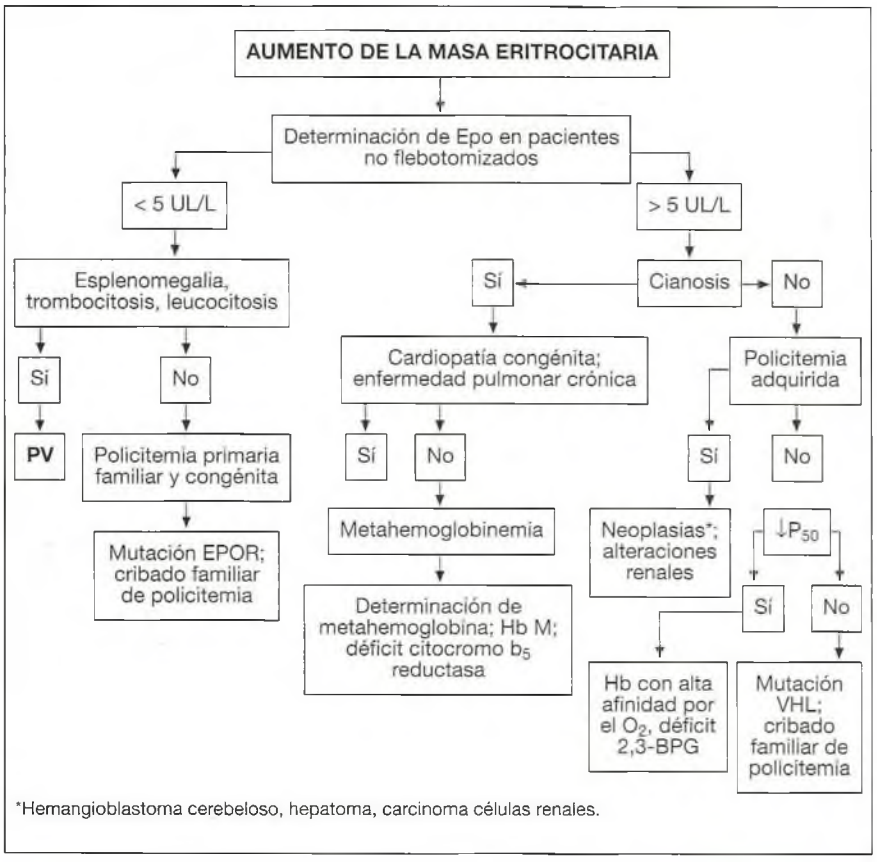


Figura 16.2. Algoritmo diagnóstico de una eritrocitosis basado en la eritropoyetina.

En determinadas circunstancias, un incremento del volumen plasmático puede enmascarar el de la citemia, permaneciendo aparentemente normales las cifras de la hemoglobina y del hematocrito. Esta situación se conoce como *policitemia vera inaparente*, y se observa en dos situaciones: *a*) cuando existe un aumento del volumen plasmático que oculta el incremento de la masa eritrocitaria, como sucede en casos de hipertensión portal secundaria a trombosis suprahepática o portal, y *b*) cuando existe ferropenia, que determina una disminución sustancial de la concentración de hemoglobina. El tratamiento con hierro restablece con rapidez los valores de hemoglobina y hematocrito, con el riesgo asociado, no obstante, de que un incremento rápido de la citemia pueda ocasionar una trombosis[24].

El Polycythemia Vera Study Group (PVSG)[25] estableció en 1975 unos criterios diagnósticos para la PV, que se detallan en la tabla 16.4. Estos criterios se establecieron para incluir en protocolos terapéuticos a pacientes con una actividad de la enfermedad relativamente homogénea y, a su vez, excluir de los mismos a pacientes con eritrocitosis secundarias o aparentes. Los criterios del PVSG han constituido el estándar de referencia diagnóstico hasta la actualidad y, aunque válidos, pueden excluir a pacientes con manifestaciones moderadas o en una fase inicial de la enfermedad, por lo que están siendo desplazados por otros que incorporan los avances producidos en los últimos años en el estudio de la PV, como los progenitores eritroides estudiados por cultivos *in vitro*, los marcadores de clonalidad, la eritropoyetina y la detección de esplenomegalia no palpable[26]. La tabla 16.5 muestra dichos criterios modificados, ampliamente aceptados en Europa. Cabe recordar que el porcentaje de falsos positivos de los criterios originales (1975) del PVSG es sólo del 0,5% (p. ej., paciente cirrótico y fumador), mientras que el de falsos negativos es del 10%. Entre los diversos motivos de falsos negativos están, entre otros: *a*) masa eritroide falsamente disminuida en pacientes obesos; *b*) masa eritroide moderadamente incrementada en formas precoces de la enfermedad, o aumento importante del volumen plasmático; *c*) hematocrito normal o escasamente aumentado por pérdidas sanguíneas digestivas, y *d*) pacientes con PV y presencia simultánea de hipoxia causada por otros motivos y excluidos por el criterio

TABLA 16.4

Criterios diagnósticos de la policitemia vera según el PVSG (1975)

Criterios mayores	Criterios menores
A1 Masa eritrocitaria[a] varones ≥ 36 mL/kg mujeres ≥ 32 mL/kg	B1 Trombocitosis ≥ 400 × 10^9/L B2 Leucocitosis ≥ 12 × 10^9/L[b]
A2 Saturación arterial de O_2 ≥ 92%	B3 Índice de FAG > 100[b]
A3 Esplenomegalia	B4 Vitamina B_{12} sérica > 900 pg/mL o CT B_{12} > 2.200 pg/mL[c]

Diagnóstico de policitemia vera si:
A1 + A2 + A3
A1 + A2 + 2 criterios de la categoría B

[a]Medida con ^{51}Cr; [b]en ausencia de fiebre o infección; [c]capacidad de transporte libre de vitamina B_{12}.

TABLA 16.5

Criterios diagnósticos modificados de la policitemia vera (Pearson, 2001)

A1 Aumento de la citemia (> 25% del valor normal calculado)
A2 Ausencia de causa de eritrocitosis secundaria
A3 Esplenomegalia palpable
A4 Marcador de clonalidad (p. ej., cariotipo medular anormal)

B1 Trombocitosis (> 400 × 10^9/L)
B2 Leucocitosis neutrofílica (neutrófilos > 10 × 10^9/L; en fumadores > 12,5 × 10^9/L)
B3 Esplenomegalia demostrada por ecografía o gammagrafía
B4 Crecimiento endógeno de BFU-E o disminución de la eritropoyetina sérica

Diagnóstico de PV si:
A1 + A2 + A3 o A4
A1 + A2 + 2 criterios de la categoría B

de una saturación de oxígeno superior al 92%. Aunque actualmente no existe un consenso generalizado sobre cuáles son los criterios diagnósticos óptimos de la PV, la aparición de las propuestas diagnósticas de la OMS (2001) supone un progreso al añadir las nuevas aportaciones sobre el conocimiento de las causas genéticas de las eritrocitosis familiares y de las alteraciones del receptor de la Epo[27] (tabla 16.6).

TABLA 16.6

Criterios diagnósticos de la policitemia vera según la OMS (2001)

A1 Masa eritrocitaria > 25% del valor normal calculado, o Hb > 185 g/L (hombres), > 165 g/L (mujeres), o > 99% del valor de referencia según la edad, sexo y altitud de residencia
A2 Ausencia de causa de eritrocitosis secundaria, incluyendo:
- Ausencia de eritrocitosis familiar
- Ausencia de aumento de eritropoyetina debido a:
  - hipoxia (PO_2 arterial ≤ 92%)
  - hemoglobinas de alta afinidad por el oxígeno
  - truncamiento del receptor de la eritropoyetina
  - producción inapropiada de eritropoyetina, de causa neoplásica

A3 Esplenomegalia
A4 Anomalía genética clonal diferente al cromosoma Ph o al gen de fusión BCR/ABL, en células de la médula ósea
A5 Crecimiento endógeno *in vitro* de colonias eritroides

B1 Trombocitosis (> 400 × 10^9/L)
B2 Leucocitosis (> 12 × 10^9/L)
B3 Biopsia medular que demuestre panmielosis, con proliferación prominente eritroide y megacariocítica
B4 Eritropoyetina sérica disminuida

Diagnóstico de PV si:
A1 + A2 y otro criterio A
A1 + A2 + 2 criterios B

Durante el año 2005 se ha descrito, en diversas publicaciones, la mutación del gen *JAK2* (V617F) en el 74-97% de los pacientes con PV, en el 29-57% de los pacientes con TE y en el 43-50% de los enfermos con MI. Se trata de una mutación activante que altera el dominio de autoinhibición JH2 de la proteína *JAK2* y que produce mediante fosforilación la activación de las moléculas de transducción de señales STAT que se unen al DNA y actúan como factores de transcripción. Su frecuencia en la PV se considerará probablemente en un futuro próximo como un elemento biológico de carácter diagnóstico[28].

Diagnóstico diferencial

Si bien en la mayoría de pacientes no es difícil establecer el diagnóstico, pues expresan manifestaciones clínicas y de laboratorio que se asocian de forma típica a la PV (tabla 16.7), en otros, en los que se ha documentado una eritrocitosis absoluta, pero que cursan con cifras de leucocitos y plaquetas normales, ausencia de esplenomegalia y sin evidencia reconocible de eritrocitosis secundaria, el diagnóstico exige la realización de diversas exploraciones complementarias para establecer la etiología. En la tabla 16.8 se sugiere una metodología de estudio de las eritrocitosis absolutas[22].

TABLA 16.7

Parámetros clínicos y de laboratorio sugestivos de policitemia vera

Leucocitosis persistente (con basofilia absoluta)
Trombocitosis persistente*
Microcitosis e hipoferritinemia
Esplenomegalia
Prurito acuógeno
Trombosis o historia previa de trombosis

*En ocasiones, puede ser la primera y única manifestación de la enfermedad.

Los principales datos clínicos y de laboratorio que permiten en una buena parte de casos diferenciar entre PV, eritrocitosis secundarias y eritrocitosis relativas, se muestran en la tabla 16.9.

Las *eritrocitosis secundarias* son las formas más frecuentes de eritrocitosis absolutas, y se considera que su descripción queda fuera del ámbito de este capítulo (v. fig. 16.2 y tabla 16.3). La *eritrocitosis* o *poliglobulia relativa* o poliglobulia espúrea o de estrés, también denominada síndrome de Gaisböck, se diagnostica, como se ha comentado anteriormente, al constatar, mediante el estudio isotópico de volúmenes, una citemia normal y una reducción del volumen plasmático. Se trata de un síndrome de consulta frecuente en la valoración de una eritrocitosis, y se asocia a obesidad, tabaquismo, hipertensión, consumo de alcohol y uso de diuréticos.

Un aspecto novedoso y caracterizado en los últimos años lo constituyen las *policitemias congénitas y familiares*[23,29]. La policitemia Chuvash es una policitemia endémica congénita debida a una alteración en la vía del sensor de O_2, y su herencia es autosómica recesiva. Se describió en una etnia de origen asiático/tártaro en la región central rusa de Chu-

TABLA 16.8

Evaluación de un paciente con eritrocitosis absoluta

Primera fase

Historia clínica:
- Historia familiar de eritrocitosis
- Enfermedad pulmonar o cardiovascular
- Obesidad, HTA
- Tabaquismo
- Hematuria
- Prurito acuógeno
- Eritromelalgia
- Trombosis o historia previa de trombosis
- Síntomas neurológicos atípicos[a]

Examen físico:
- Aspecto pletórico
- Cianosis
- Esplenomegalia, hepatomegalia

Datos de laboratorio:
- Hemograma con revisión citomorfológica
- Eritropoyetina
- Ferritina
- Vitamina B_{12}, uricemia, LDH
- Gasometría arterial
- FAG
- Carboxihemoglobina (fumadores)
- Funcionalismo hepático y renal
- Sedimento de orina

Técnicas de imagen:
- Radiografía de tórax
- Ecografía abdominal/renal

Segunda fase

Mielograma con tinción de Perls
Cariotipo de médula ósea; FISH
Biopsia ósea con tinción de reticulina
Mutación JAK2 V617F
Cultivo *in vitro* de progenitores eritroides y megacariocíticos
Otras valoraciones:
- P_{50}[b]
- Pruebas funcionales respiratorias
- Polisomnografía
- Ecocardiograma
- TC torácica, abdominal, cerebral
- PRV-1, clonalidad mieloide (HUMARA), c-Mpl

[a]Cefaleas, vértigo, acufenos, parestesias, alteraciones visuales.
[b]Concentración de O_2 en la que la hemoglobina se halla saturada un 50%.

TABLA 16.9

Diagnóstico diferencial de las eritrocitosis

	Policitemia vera	Eritrocitosis secundaria	Eritrocitosis relativa
Hematocrito	A	A	A
Volumen eritrocitario	A	A	N
Volumen plasmático	N/A	N	D
Saturación arterial O_2	N[a]	D/N	N
Esplenomegalia	Sí	No	No
Trombocitosis	Sí	No	No
Leucocitosis	Sí	No[b]	No[b]
Basofilia	Sí	No	No
FAG	A	N	N
Vitamina B_{12}	A	N	N
Eritropoyetina	D/N	A	N
Médula ósea	Hiperplasia global	Hiperplasia eritroide	N
BFU-E endógeno	Sí	No	No

A: aumentado; N: normal; D: disminuido.
[a]D si coexiste con neumopatía.
[b]Posible, en caso de tabaquismo.

vashia, aunque se ha descrito también en otras regiones europeas y en otros orígenes étnicos. Los estudios moleculares indican que la mayoría de los pacientes son homocigotos para la mutación C598T—Arg200Trp en el gen VHL (Von Hippel-Lindau). Los pacientes no presentan los tumores característicos del síndrome, como hemangioblastomas, carcinoma renal y feocromocitomas, pero sí una elevada mortalidad por trombosis secundaria a la eritrocitosis.

En condiciones normales, la producción de Epo se halla mediada por la disminución de saturación de oxígeno de la hemoglobina. La estimulación de la hipoxia conduce a una producción del factor inducido de hipoxia (HIF1), que es el principal responsable de la actividad transcripcional del gen de la Epo. El HIF1 está compuesto de dos subunidades, HIF1 alfa y HIF1 beta que forman un heterodímero; sólo el alfa está regulado por la hipoxia, aumentando con la misma y disminuyendo rápidamente con la concentración normal de oxígeno. La mutación de VHL determina un deterioro de la unión de la proteína VHL con HIF1 alfa, que, junto con hierro, oxígeno y una prolinahidroxilasa, constituyen en conjunto el sensor de oxígeno. Se produce, por tanto, una disminución de la degradación de HIF1 alfa, produciéndose un incremento de la expresión de genes como la Epo y el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) que también se halla regulado por HIF1. Como consecuencia, aumenta la síntesis de Epo y la estimulación de la eritropoyesis. Se considera, no obstante, que en su patogenia deben intervenir otros factores aparte de los genéticos, pues se ha evidenciado que los progenitores eritroides de estos pacientes son exquisitamente sensibles en los cultivos *in vitro* a la Epo exógena.

La policitemia primaria familiar y congénita se caracteriza por una Epo disminuida y por una hipersensibilidad de las colonias eritroides a la Epo. Su herencia es autosómica dominante. En algunos casos, está causada por un aumento de función resultante del truncamiento del receptor de la Epo, al carecer éste de un dominio regulador negativo, lo que determina que sea hipersensible a la Epo. Se han descrito casos que siguen un patrón de herencia autosómica dominante con penetrancia incompleta y, por otra parte, es probable que existan otras mutaciones diferentes del receptor de la Epo que determinen una señal anormal en la regulación de la Epo.

Con el término *eritrocitosis idiopática* se describen aquellos pacientes con eritrocitosis absoluta sin causa identificable y que no cumplen criterios diagnósticos de PV. Se trata de una entidad heterogénea que incluye formas latentes de PV, eritrocitosis secundarias de causa no filiada y otras condiciones. Estos pacientes deben tener cifras normales de leucocitos, plaquetas, eritropoyetina, saturación arterial de oxígeno y ecografía abdominal normal[30]. Algunos de ellos evolucionan, con

el paso de los años, a una PV. Otros pueden representar una variante fisiológica, con una masa eritrocitaria mayor que la establecida por los valores de referencia.

La PV que va acompañada de marcada trombocitosis puede plantear problemas diagnósticos con la *trombocitemia esencial*. En el apartado «Diagnóstico» de la «Trombocitemia esencial» se discute esta posibilidad.

Evolución

La PV puede progresar por una serie de fases o estadios que van desde una fase inicial asintomática en la que sólo se detecta una eritrocitosis aislada asociada o no a trombocitosis y esplenomegalia, seguida por una fase de eritrocitosis sintomática y ésta por una fase inactiva durante la cual la enfermedad parece estable, y que puede evolucionar a una fase pospolicitémica con metaplasia mieloide, denominada también fase de «agotamiento» (*spent phase*). Otra posibilidad es que se produzca una transformación a una leucemia aguda, habitualmente de tipo mieloide (tabla 16.10). La transformación a mielofibrosis se produce en el 10% de pacientes a los 10-15 años, y en el 50% después de 20 años, independientemente del tratamiento efectuado, aunque existen variaciones individuales muy amplias[31]. La metaplasia mieloide pospolicitémica se caracteriza por: *a*) incremento progresivo de la esplenomegalia; *b*) síndrome leucoeritroblástico y presencia de hematíes en lágrima (dacriocitos) en sangre periférica; *c*) fibrosis medular difusa, y *d*) normalización o disminución de la masa eritrocitaria, con instauración de una anemia progresiva. La evolución leucémica es mucho más frecuente en este contexto (20-50%). Los pacientes pueden estar asintomáticos o presentar síntomas como astenia progresiva, anorexia y pérdida de peso. El crecimiento del bazo es la manifestación clínica más frecuente y, a diferencia de la esplenomegalia presente al diagnóstico, su incremento en tamaño se debe, aparte del aumento en el *pool* esplénico eritrocitario, al establecimiento progresivo de una hematopoyesis extramedular[15]. La esplenomegalia puede ocasionar dolor abdominal por infartos esplénicos, sensación de plenitud abdominal por compresión mecánica del tracto digestivo y el denominado efecto del «tubo de pasta de dientes», con frecuentes deposiciones por compresión esplénica del colon.

La anemia en esta situación puede ser el resultado de varios factores: hiperesplenismo, eritropoyesis ineficaz, acortamiento de la vida media eritrocitaria y también por déficit de folato y hierro. La combinación de andrógenos y corticoides en dosis bajas puede ensayarse en los pacientes en los que se ha descartado una causa carencial. Antes de iniciar un tratamiento androgénico siempre debe procederse a un examen rectal y determinación del PSA, advirtiendo de los posibles efectos virilizantes a las mujeres. La trombocitopenia y las alteraciones del funcionalismo plaquetario pueden causar hemorragias en forma de epistaxis o equimosis. Las hemorragias gastrointestinales suelen ser consecuencia de varices esofágicas secundarias a una hipertensión portal. La mayoría de pacientes fallece antes de los 3 años de haberse producido la transición mielofibrótica, aunque el 30% vive entre 6 y 7 años.

TABLA 16.10

Evolución de la policitemia vera

Estadio	Características clínicas
Fase asintomática	Esplenomegalia
↓	Eritrocitosis aislada
	Trombocitosis aislada
Fase sintomática	Eritrocitosis
	Trombocitosis
	Leucocitosis
↓	Esplenomegalia
	Trombosis
	Hemorragia
	Prurito
Fase inactiva	Reducción de los requerimientos de flebotomías o quimioterapia
↓	
Fase de agotamiento: metaplasia mieloide pospolicitémica	Anemia
	Síndrome leucoeritroblástico
	Trombocitopenia o trombocitosis
	Incremento de la esplenomegalia
↓	Sistemas sistémicos (fiebre, adelgazamiento)
Leucemia aguda mieloide	

Tratamiento

Medidas específicas

Flebotomías

Las flebotomías constituyen el tratamiento esencial de la PV. Su objetivo es reducir de forma rápida el riesgo trombótico causado por el aumento de la masa eritrocitaria. El hematocrito diana que se debe conseguir en las flebotomías debe ser inferior a 0,45 L/L y a 0,42 L/L, en hombres y mujeres, respectivamente. En la infrecuente situación de una paciente embarazada, el hematocrito diana debería ser inferior a 36 L/L[6]. En los pacientes más jóvenes, con función cardiovascular normal, pueden efectuarse sin riesgo flebotomías de 450 mL a días alternos hasta alcanzar este objetivo. En pacientes de edad avanzada o con problemas cardiovasculares, es aconsejable practicar flebotomías de 200-300 mL dos o tres veces por semana. Una vez normalizado el hematocrito, los controles cada 4-8 semanas establecerán la frecuencia de futuras flebotomías.

Debe recordarse que según la experiencia del PVSG, los pacientes en tratamiento con flebotomías que presentaron más trombosis fueron los que necesitaron una frecuencia elevada de sangrías, los que tenían antecedentes trombóticos previos y los de edad más avanzada. Najean advierte que la posibilidad de que la flebotomía sea el único tratamiento a largo plazo de la enfermedad es escasa, pues, en su experiencia, el 50% de pacientes a los 5 años y el 90% a los 10 años abandonaron el tratamiento debido a la necesidad de incorporar mielodepresores, a causa del riesgo trombótico y por la mala tolerancia del paciente a las flebotomías de repetición[31]. Por otra parte, los enfermos que se tratan sólo con flebotomías parecen tener un mayor riesgo de desarrollar mielofibrosis[32].

Quimioterapia

El PVSG se constituyó en 1967 con la ayuda del Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos, con la finalidad de llevar a cabo un ensayo prospectivo, aleatorizado y controlado sobre cuál era el mejor tratamiento para la PV, comparan-

do la flebotomía, el ^{32}P y el clorambucilo. Se incluyeron 431 pacientes entre 1967 y 1974. El estudio demostró que la mediana de supervivencia global fue de 12,6, 10,9 y 9,1 años, para los pacientes tratados con flebotomías, ^{32}P y clorambucilo, respectivamente. La causa más frecuente de fallecimiento en este estudio fue la trombosis (29%), seguida de neoplasias hematológicas (23%), cáncer no hematológico (16%), hemorragia (7%) y mielofibrosis (3%). Se evidenció que el aumento de mortalidad en los pacientes tratados con dichos mielodepresores estaba causado por un incremento de neoplasias hematológicas (leucemia aguda, linfoma) y no hematológicas (neoplasias del tubo digestivo). Concretamente, la incidencia de leucemia aguda durante un seguimiento de 13 a 19 años fue del 1,5, 9,6 y 13,2% si el tratamiento recibido había consistido en flebotomías, ^{32}P y clorambucilo, respectivamente. Otros aspectos destacables fueron: *a*) el aumento de complicaciones trombóticas durante los tres primeros años en los pacientes tratados únicamente con sangrías respecto a los tratados con mielodepresores, concluyendo que la mielodepresión disminuye el riesgo trombótico; *b*) la asociación entre el riesgo de trombosis y una edad superior a 70 años o historia de trombosis, y c) que el riesgo de transformación a mielofibrosis pospolicitémica no se halla modificado por el clorambucilo o el ^{32}P. A su vez, se observó que la aparición de una mielofibrosis pospolicitémica incrementa el riesgo de transformación aguda[33].

Los principales agentes mielodepresores utilizados en el tratamiento de la PV son el ^{32}P, el busulfán, el pipobromán y, actualmente, la hidroxiurea.

El *^{32}P* es un agente muy eficaz en el control de la PV. Actúa por incorporación del ortofosfato de ^{32}P en los ácidos nucleicos de las células con capacidad de proliferación rápida. La principal indicación es en pacientes de edad avanzada que no puedan seguir controles con la regularidad adecuada. Se administra en dosis de 2,3 mCi/m^2 por vía intravenosa (dosis límite, 5 mCi). Su efecto es aparente a los 2-3 meses. En caso de necesidad, puede repetirse la administración a las 12 semanas, aumentando la dosis un 25% y, si de nuevo no se produce respuesta, se administra una tercera dosis con un nuevo incremento del 25%. No deben excederse los 15 mCi anuales. Su principal ventaja es la prolongada duración de su efecto mielodepresor, de 6 a 24 meses. La experiencia de Balan[34] en el tratamiento con ^{32}P de 183 pacientes con PV se resume en que el 50% de casos normalizaron las cifras hematológicas después de una única dosis, y el 73% después de dos dosis, que la mielofibrosis se presentó una mediana de 6 años después de la primeren dosis, y que la incidencia observada de leucemia aguda fue aproximadamente del 8%.

El *busulfán* es un agente alquilante que también puede utilizarse en el tratamiento de la PV, pero al igual que el ^{32}P, su indicación principal es en pacientes de edad avanzada, en los que, con dosis bajas (2-4 mg/día) puede lograr una mielodepresión duradera. Su mayor inconveniente reside, precisamente, en el riesgo de aplasia y en los posibles efectos tóxicos extrahematológicos, como la fibrosis pulmonar.

El *pipobromán* es un derivado piperacínico que actúa por un mecanismo de tipo alquilante y que se ha demostrado efectivo en la PV. La dosis inicial para conseguir una respuesta hematológica es de 1 mg/kg/día, y la dosis de mantenimiento, de 0,3-0,6 mg/kg/día. El 94% de los pacientes responden a las 13 semanas. El riesgo acumulado de leucemia, mielofibrosis y tumores sólidos a los 10 años es del 5, 4 y 8%, respectivamente[35].

Actualmente, la *hidroxiurea* es el agente mielodepresor más utilizado en el tratamiento de la PV y de la trombocitemia esencial. Se trata de un antimetabolito que interfiere la síntesis de DNA por inhibición de la ribonucleótido reductasa. En dosis de 30 mg/kg/día la primera semana, seguida de 15 mg/kg/día posteriormente, consigue un control prolongado de la enfermedad en el 70% de pacientes. El PVSG ha observado que, con un seguimiento de hasta 15 años, la incidencia de leucemia aguda y mielofibrosis en los pacientes tratados con hidroxiurea y flebotomías no fue significativamente superior a la de los pacientes tratados únicamente con sangrías, aunque se observó una mayor tendencia a leucemia aguda y a menor aparición de mielofibrosis en los pacientes tratados con hidroxiurea[36]. En la literatura, no obstante, se describen casos aislados bien documentados de aparición de leucemia aguda en pacientes tratados únicamente con hidroxiurea, y existe controversia sobre si es un efecto del fármaco o una manifestación del potencial de transformación clonal de la enfermedad. Se considera el agente quimioterápico de elección en los casos en los que se necesite controlar la panmielosis de la enfermedad.

En la experiencia de un estudio internacional sobre 1.638 pacientes, se diagnosticaron 22 casos de leucemia aguda/síndrome mielodisplásico después de una mediana de 8,4 años desde el diagnóstico. El factor predictivo más importante de la aparición de ambas complicaciones fue la edad avanzada. La exposición a fósforo radiactivo, busulfán y pipobromán, asociados o no con hidroxiurea, se correlacionó con un riesgo excesivo de progresión clonal, pero no con hidroxiurea, cuando se comparó a pacientes tratados únicamente con flebotomía o interferón. La incidencia de transformación osciló entre 0,5-1% por año en los pacientes tratados con hidroxiurea, y entre 0,7-1,7% en los tratados con pipobromán, con un incremento progresivo del riesgo a medida que transcurre el tiempo desde el diagnóstico[5].

Interferón

El interferón (IFN) constituye en la PV una alternativa de citorreducción no quimioterápica. Su mecanismo de acción en esta enfermedad es múltiple; inhibe el crecimiento de los progenitores eritroides y antagoniza la acción del PDGF (*platelet derived growth factor*) y del TGF-beta que intervienen en la patogenia de la mielofibrosis. El tratamiento con IFN se inicia en dosis bajas, escalando hasta 3-5 MU, tres veces por semana. En general, se necesitan de 6 a 12 meses de tratamiento para conseguir un efecto pleno, definido por la ausencia de necesidad de flebotomías y por una cifra de plaquetas igual o inferior a 600×10^9/L. Durante el primer año, pueden precisarse sangrías para controlar el hematocrito.

El IFN puede corregir la microcitosis de la ferropenia, controlar la trombocitosis, disminuir los síntomas constitucionales, entre ellos, un prurito refractario a otras medidas, y reducir el tamaño esplénico[32]. Su principal indicación es en el paciente joven que necesita mielodepresión por una trombocitosis incontrolada e insuficiente control del hematocrito con las flebotomías, y en el contexto del embarazo. Cabe recordar que un tercio de pacientes que necesitan IFN a largo plazo abandonan el tratamiento por sus efectos secundarios inmediatos (síntomas seudogripales) y que su uso prolongado puede asociarse con fenómenos graves, como trastornos autoinmunes y depresión, entre otros.

Anagrelida

La anagrelida está indicada en el control de la trombocitosis extrema acompañada de síntomas hemorrágicos o microvasculares en un paciente joven, en el que la estrategia de tratamiento se base en las flebotomías.

Antiagregantes

Las dosis habituales de aspirina están contraindicadas en la PV por el aumento en la incidencia de problemas hemorrágicos graves, especialmente gastrointestinales. Por el contrario, las dosis bajas de ácido acetilsalicílico (AAS) (100 mg/día) han demostrado ser efectivas como profilaxis primaria antitrombótica. En el estudio ECLAP y sobre 518 pacientes, se demostró una reducción del riesgo de complicaciones trombóticas no mortales (IAM, infarto cerebral, TEP o muerte por causas cardiovasculares), aunque no se redujo de forma significativa la mortalidad global o cardiovascular[37]. El mecanismo del AAS se produce a través de la inhibición de la ciclooxigenasa plaquetaria, pues se ha demostrado un aumento de la síntesis de tromboxano en los pacientes con PV hasta 10 veces superior a la de los sujetos normales.

Tratamiento sintomático

La hiperuricemia debe tratarse con alopurinol en dosis de 100-300 mg/día y la gota, de forma convencional. El prurito generalizado, presente hasta en el 50% de los pacientes y precipitado por el baño o la ducha e incluso por el frotamiento vigoroso con una toalla, puede mejorar cuando la enfermedad se halla controlada, pero también puede persistir a pesar de ello. Entre las diversas medidas que pueden utilizarse, las más útiles son las dosis bajas de aspirina, la ciproheptadina como antihistamínico H_1 en dosis de 4 mg tres veces al día, el pizotifeno en dosis de 0,5 mg, tres tomas diarias, y la colestiramina. Otras medidas que pueden considerarse son el PUVA, los antidepresivos inhibidores de la recaptación de serotonina, como la paroxetina, y el IFN-α.

Cirugía y policitemia vera

El paciente con PV no controlada que debe someterse a cirugía electiva tiene un riesgo muy elevado de complicaciones trombóticas y/o hemorrágicas que pueden ocasionar un notable incremento de la mortalidad. Por tal motivo, la cirugía electiva y otros procedimientos menores como las extracciones dentarias deberían posponerse hasta que se haya controlado la enfermedad durante por lo menos 2 meses. Si la intervención quirúrgica es urgente, debe reducirse el hematocrito mediante flebotomías, con reposición normovolémica hasta conseguir un valor normal.

Estrategia general

Una vez establecido el diagnóstico de PV, el tratamiento debe individualizarse según la edad del paciente y las manifestaciones clínicas actuales o previas. El tratamiento de la PV, como el de la trombocitemia esencial, exige un cuidadoso análisis individual del beneficio y de los efectos adversos del mismo. La mayoría de recomendaciones terapéuticas actuales se basan en estrategias que reduzcan el riesgo de complicaciones vasculares oclusivas y, a su vez, que disminuyan el riesgo de transformación a leucemia aguda o a otras neoplasias[38]. La figura 16.3 muestra las recomendaciones terapéuticas actuales más consensuadas[39].

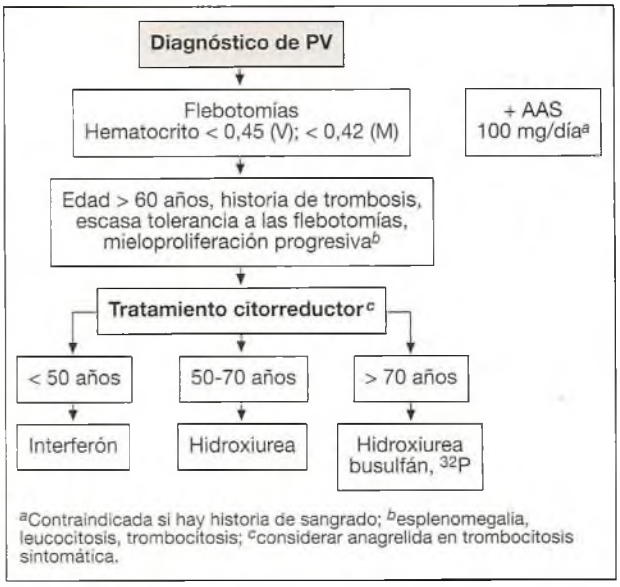


Figura 16.3. Recomendaciones terapéuticas en la policitemia vera.

Pronóstico

Los pacientes con PV sin tratamiento tienen una mediana de supervivencia de tan sólo 18 meses, mientras que los tratados viven, en general, más de 15 años. En el estudio ECLAP y sobre 1.638 pacientes, las causas de mortalidad fueron las siguientes: 41% trombosis, 13% transformación hematológica, 4% sangrado, 20% otras neoplasias y 22% otras causas[37]. Los pacientes de menos de 50 años tienen una mediana de supervivencia superior a 23 años, pero presentan una mortalidad superior a la de la población general. En este grupo de pacientes, el riesgo acumulado de leucemia aguda y de mielofibrosis a los 20 años es del 15 y 10%, respectivamente[40].

TROMBOCITEMIA ESENCIAL

Concepto y etiopatogenia

La trombocitemia esencial (TE) es un SMPC caracterizado por un incremento persistente de la cifra de plaquetas, con hiperplasia megacariocítica de la médula ósea. La enfermedad no se consideró una entidad clinicopatológica hasta las descripciones de Gunz[41] y Ozer[42] en 1960. Considerada hasta hace pocos años como el SMPC menos frecuente, la incorporación sistemática del recuento de plaquetas en los contadores hematológicos ha incrementado la frecuencia diagnóstica de pacientes asintomáticos y de enfermos jóvenes. Aunque no se dispone en nuestro medio de estudios prospectivos sobre su prevalencia, es probable que actualmente sea el más frecuente de todos los SMPC, con 2 a 3 casos por 100.000 habitantes y año. Clínicamente, se manifiesta por una tendencia a presentar complicaciones trombóticas y/o hemorrágicas.

Si bien su etiología es desconocida, su origen en una célula pluripotente hematopoyética fue demostrado por Fialkow en 1981 al demostrar clonalidad en hematíes, granulocitos y plaquetas mediante el análisis del patrón de distribución de las isoenzimas de la glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa en mujeres heterocigotas para la misma[43]. Los recientes estudios de análisis de los polimorfismos del DNA y del RNA han

demostrado que la TE es una enfermedad heterogénea desde el punto de vista clonal, al evidenciar un 25-30% de pacientes que aun cumpliendo con todos los criterios diagnósticos exigidos y presentando manifestaciones clínicas típicas, tienen una hematopoyesis policlonal[44]. El estudio de la clonalidad mieloide en la TE tiene limitaciones, ya que sólo es aplicable en mujeres, al estar basado en los patrones de inactivación del cromosoma X, y a su vez, de cierta complejidad, pues se ha observado, por una parte, que el 20-25% de mujeres hematológicamente normales presentan un desequilibrio constitucional de expresión alélica, y por otra, que una cuarta parte de mujeres sanas de edad avanzada muestran un patrón clonal de los granulocitos[45]. Se desconoce todavía si los estudios moleculares de clonalidad identificarán subgrupos biológicamente distintos con diferente expresividad clínica.

Entre los diversos mecanismos que se han implicado en la patogenia de la enfermedad, cabe destacar el papel de la trombopoyetina (TPO) y de otras citocinas con acción hematopoyética. El modelo actual de regulación de la trombocitopoyesis por la TPO sugiere que su síntesis es constante, y que las concentraciones sanguíneas se hallan controladas por la unión a su receptor c-Mpl, que se expresa en la superficie de las plaquetas y de los megacariocitos. Supuestamente, las concentraciones de TPO en sangre son inversamente proporcionales a la masa plaquetaria, y en su regulación influiría la masa megacariocítica corporal. Según este modelo, las concentraciones de TPO en la TE deberían ser bajas, pero en cambio, son normales o se hallan incluso aumentadas. Tal discrepancia se explicaría porque las plaquetas de los pacientes con TE presentan una gran disminución en el número de receptores c-Mpl, por lo que la unión, internalización y catabolismo de la TPO a los receptores se hallaría disminuida, con lo que la TPO libre en plasma actuaría sobre los receptores restantes, que, aunque disminuidos, son hipersensibles a la acción de la TPO, activándose la proliferación megacariocítica.

A diferencia de la forma clásica o esporádica, en la trombocitosis hereditaria familiar, de herencia autosómica dominante, se han descrito en algunos pacientes mutaciones en los genes de la TPO y de su receptor c-Mpl (en el 80% de casos la causa genética se desconoce). Su curso clínico es anodino, con ocasionales complicaciones trombóticas, pero sin transformación leucémica[21].

Respecto al papel de otras citocinas en la patogenia de la TE, se ha constatado que en cultivos *in vitro* en medio semisólido carentes de suero, y por tanto, aparentemente sin fuente exógena de citocinas, los progenitores megacariocíticos circulantes de los pacientes con TE demuestran una hipersensibilidad muy específica respecto al factor recombinante de crecimiento megacariocítico, mientras que dicha sensibilidad es nula en controles normales[4,21]. Este fenómeno biológico apoyaría la hipótesis, entre otras, de que aun compartiendo un origen celular común, los diferentes fenotipos clinicopatológicos en los SMPC podrían estar determinados por la hipersensibilidad restringida de una línea de progenitores hematopoyéticos a las citocinas endógenas.

Manifestaciones clínicas

La edad mediana en el momento del diagnóstico es de 60 años, y existe un claro predominio femenino (relación mujer/varón 1,6:1), con un pico de incidencia en la tercera y cuarta décadas de la vida[46]. El 15-20% de los pacientes tiene menos de 40 años de edad. Se acepta que un tercio o más del total de enfermos se diagnostican de forma fortuita con motivo de la realización de un hemograma, solicitado como control rutinario o por otros motivos. La anamnesis debe interrogar intencionadamente sobre la presencia de factores de riesgo vascular (hipercolesterolemia, tabaquismo, hipertensión y diabetes), historia familiar de trombocitosis en el caso de pacientes pediátricos y existencia de síntomas neurológicos atípicos (v. más adelante).

La exploración física es relativamente anodina, a excepción de una esplenomegalia moderada en menos del 20% de pacientes. La ecografía abdominal puede evidenciar hasta en el 50% de pacientes sin esplenomegalia palpable un aumento del volumen esplénico[47].

Las principales causas de morbilidad y mortalidad en la TE son los episodios trombóticos y/o hemorrágicos que con frecuencia aparecen durante el curso clínico de la enfermedad. Las complicaciones hemostáticas son básicamente de tres tipos: trombóticas, hemorrágicas y oclusivas microvasculares por alteración de la microcirculación. La mayoría de pacientes presentan clínica trombótica y microcirculatoria, en contraposición a la hemorragia, que es infrecuente. Algún paciente manifiesta clínica trombótica y hemorrágica de forma intermitente y asincrónica durante la evolución clínica. La frecuencia y tipo de manifestaciones clínicas más frecuentes en la TE se detallan en la tabla 16.11.

TABLA 16.11

Manifestaciones clínicas de la trombocitemia esencial[a]

- Ninguna (50%)
- Trombosis/isquemia grave (11-25% al inicio)
  Arterial: SNC, vascular periférica, cardíaca
  Venosa (4%): TVP[b], esplácnica, síndrome de Budd-Chiari, senos cerebrales
- Oclusión microvascular/alteraciones de la microcirculación (36%)
  Sistema vascular periférico: eritromelalgia, isquemia digital, cianosis, gangrena
  Neurológica: AIT, cefaleas, parestesias, alteraciones visuales, vértigo
- Hemorragia (5%)
  Sangrado digestivo, hemorragia cutánea, partes blandas
- Aborto (26-36% de los embarazos)

[a]Entre paréntesis, la frecuencia estimada; IAM: infarto agudo de miocardio; TVP: trombosis venosa profunda; AIT: accidente isquémico transitorio. [b]Con o sin TEP (tromboembolismo pulmonar).

La incidencia de complicaciones trombóticas es variable según las series clínicas, y oscila en diferentes estudios retrospectivos entre el 31 y el 83%, con una frecuencia del 11-25% en la presentación clínica y del 7-17% durante el seguimiento[48,49]. La trombosis arterial es mucho más frecuente que la trombosis venosa. Los territorios afectados, por orden de frecuencia, son la circulación cerebrovascular, vascular periférica, coronaria y, más raramente, los grandes vasos arteriales y venosos.

La isquemia vascular cerebral es la complicación oclusiva arterial más frecuente, tanto como complicación previa al diagnóstico como accidente isquémico con el que debuta la enfermedad, y también como complicación evolutiva[50]. No es excepcional que el ictus se acompañe de una trombocitosis moderada, incluso inferior a 600 × 10^9/L. El crecimiento endógeno de progenitores mieloides de sangre periférica permite el diagnóstico de dichos casos atípicos[51], así como el de otros SMPC que se inician con una trombosis esplácnica sin valores hematoperiféricos clínicamente orientativos[52]. Las trombosis venosas se observan como trombosis venosas profundas de las extremidades inferiores o embolismo pulmonar, pero también como trombosis de los grandes vasos intraabdominales o de los senos cerebrales. La afección isquémica cardíaca puede causar síntomas anginosos o infarto agudo de miocardio incluso en ausencia de ateroesclerosis coronaria, como sucede en algún paciente con claudicación intermitente en el que no se demuestra enfermedad ateroesclerótica periférica evidente[53].

La eritromelalgia constituye el fenómeno paradigmático de la oclusión microvascular en la TE. Se caracteriza por una sensación de quemazón, dolor intenso y enrojecimiento de los dedos de las extremidades o de la planta del pie. Este cuadro clínico no es exclusivo de la TE, pues puede presentarse en otros SMPC y preceder en años al diagnóstico[54]. Se trata de un fenómeno trombótico microvascular causado por la activación y agregación de las plaquetas en las arteriolas distales de las extremidades. Sin tratamiento, puede progresar a isquemia acrocianótica e incluso gangrena. La biopsia cutánea evidencia una inflamación endotelial y proliferación fibromuscular de la íntima, con frecuente oclusión por microtrombos ricos en plaquetas en las arteriolas y en las pequeñas arterias, que no muestran en el examen histológico signos de enfermedad vascular preexistente[55]. El ácido acetilsalicílico revierte completa y rápidamente la inflamación y el dolor, restaurando la circulación periférica.

Las microoclusiones de la circulación cerebral ocasionan síntomas diversos como accidente isquémico transitorio, parestesias, cefaleas, vértigo, síncope y sensación de inestabilidad, y diferentes manifestaciones visuales como escotomas, visión borrosa y sensación de luces de flash o de relámpagos. Se trata de síntomas neurológicos «atípicos», sin focalidad neurológica y cualitativamente diferentes de los que se presentan asociados con las lesiones isquémicas cerebrales de tipo aterosclerótico. La secuencia neurológica se caracteriza por un inicio súbito, corta duración y curso secuencial. En ocasiones, aparece una cefalea pulsátil que dura varias horas, simulando un episodio migrañoso, del que se diferencia por su comienzo repentino, en contraste con el inicio gradual de la migraña[56,57].

Las complicaciones hemorrágicas graves son infrecuentes y afectan de forma principal al aparato digestivo en forma de hemorragia sin lesiones endoscópicas demostrables. La púrpura equimótica y los hematomas son las manifestaciones cutáneas más frecuentes[58]. Un 8-14% de pacientes presentarán complicaciones hemorrágicas durante el seguimiento. El prurito, aunque se considera característico de la policitemia vera, también es un síntoma que refiere algún paciente con TE.

Las complicaciones vasculares oclusivas también inciden en la esfera obstétrica. En el conjunto de SMPC la TE es el síndrome con más mujeres jóvenes afectadas. La TE se asocia con un riesgo incrementado de aborto espontáneo (la complicación más frecuente) y con retraso en el crecimiento fetal, muerte intrauterina y parto prematuro. La trombosis de los vasos placentarios es el factor directamente implicado en la patogenia de las complicaciones obstétricas. El 50-57% de los embarazos consigue llegar a término, y el riesgo de aborto durante el primer trimestre (36%) no puede predecirse por la cifra de plaquetas previa al embarazo. Las complicaciones maternas son relativamente infrecuentes (< 3%). No se ha demostrado ningún factor clínico o biológico predictivo de complicaciones obstétricas. Es frecuente observar, durante la gestación de las pacientes con TE, una disminución espontánea de la cifra de plaquetas, superior a la disminución del 10-20% que se registra en la gestación normal. El IFN es el tratamiento de elección en las pacientes de alto riesgo (historia de trombosis). La administración de AAS en dosis bajas en las pacientes de bajo riesgo parece razonable[59].

La patogenia de las complicaciones trombóticas y hemorrágicas en la TE se atribuye a múltiples y complejas alteraciones estructurales, funcionales y metabólicas de las plaquetas trombocitémicas. Entre las diversas alteraciones cabe destacar las del metabolismo del ácido araquidónico plaquetar. La ciclooxigenasa-1 (COX-1) convierte el ácido araquidónico en tromboxano A_2, que es un potente vasoconstrictor y agonista plaquetar. El AAS suprime de forma selectiva la síntesis de tromboxano A_2, incluso en dosis bajas (50 a 100 mg/día), lo que explicaría la efectividad de este antiagregante en la TE. Los resultados de la agregometría plaquetar, aunque frecuentemente anormal, no guardan relación con las manifestaciones clínicas del paciente, ya sean trombóticas o hemorrágicas, por lo que carecen de utilidad clínica[60,61]. Otros mecanismos implicados en la patogenia trombótica en la TE señalan al aumento de marcadores de activación plaquetar como la P-selectina, constituyentes de los gránulos alfa (beta-tromboglobulina, factor plaquetar 4), marcadores de activación de los granulocitos neutrófilos (CD11/CD18)[62] y la presencia de agregados leucocito-plaqueta circulantes. Tanto en la TE como en la PV, el incremento del riesgo trombótico se asocia también con alteraciones de laboratorio sugestivas de activación endotelial y del sistema de la coagulación[63].

Los factores clínicos asociados con un mayor riesgo trombótico son la edad superior a 60 años y la historia de trombosis previa al diagnóstico o en el momento del mismo[64,65]. El grado de trombocitosis no se corresponde con la aparición de complicaciones oclusivas, pues éstas también se producen con trombocitosis moderadas[66]. La hipercolesterolemia, el tabaquismo y la hipertensión arterial son factores de riesgo vascular que pueden intervenir aumentando el riesgo trombótico, aunque no existe consenso al respecto. En los pacientes con trombosis venosa, debería efectuarse un estudio de trombofilia para detectar anomalías genéticas concomitantes (mutación protrombina G20210A, factor V Leiden, etc.) o adquiridas (antifosfolípido) que predispongan a un estado protrombótico adicional. Recientemente, se ha descrito una mayor frecuencia de complicaciones trombóticas en mujeres que presentan un patrón monoclonal de hematopoyesis, evidenciada por el estudio del receptor androgénico humano (HUMARA)[67] y, asimismo, en aquellos pacientes que presentan por inmunohistoquímica una expresión disminuida del receptor c-Mpl en los megacariocitos de médula ósea[68]. Dichas correlaciones deben considerarse todavía de forma provisional y confirmarse de forma prospectiva en un mayor número de estudios.

El riesgo hemorrágico se ha asociado con trombocitosis superiores a 1.500 × 10^9/L y con la utilización de AAS o antiinflamatorios no esteroideos (AINE). En el primer caso, la patogenia se atribuye a una disminución de los multímeros de gran tamaño del factor Willebrand que ocasiona una diátesis hemorrágica por Willebrand adquirido. El defecto funcional se evidencia al valorar la actividad del cofactor de ristocetina, determinación aconsejable en los pacientes con trombocitosis extremas. El tratamiento de esta diátesis adquirida se basa en normalizar lo antes posible la cifra de plaquetas con hidroxiurea o incluso trombocitoaféresis, hasta que la alteración funcional del factor Willebrand se corrija. La desmopresina o la administración de concentrados del factor deficitario pueden ser, en algún caso, útiles[69].

La TE pediátrica presenta aspectos diferenciales respecto a la del adulto. El 70% de los pacientes se hallan asintomáticos inicialmente, con una mayor frecuencia de esplenomegalia y de casos familiares (40-50% del total de pacientes). Los casos familiares se heredan de forma autosómica dominante, y como características propias destacan cifras de plaquetas inferiores a los casos no familiares y ausencia de trombosis y de evolución clonal. En contraposición, los pacientes pediátricos sin antecedentes familiares presentan características y complicaciones similares a las formas del adulto[70,71].

Datos de laboratorio

Los parámetros hematológicos más característicos al inicio de la enfermedad son la normalidad de la concentración de la hemoglobina y del hematocrito y una leucocitosis moderada (< 20 × 10^9) con presencia ocasional de alguna forma mieloide inmadura. La basofilia suele ser moderada, y no suele superar el 3% de la fórmula leucocitaria, a diferencia de la PV en la que es más constante[72]. La extensión de sangre periférica muestra la presencia de agregados de plaquetas de morfología alterada, con presencia de anisocitosis plaquetaria, plaquetas gigantes, vacuolización e hipogranularidad. Es posible observar fragmentos de citoplasma o núcleos de megacariocitos circulantes. Con todo, en algunos pacientes apenas se observan alteraciones morfológicas plaquetarias[14]. El índice de FAG puede estar normal o aumentado. Los parámetros bioquímicos evidencian normalidad de la ferritina (puede estar disminuida, como la hemoglobina, en caso de sangrado por mucosas) y de la VSG y de las proteínas reactantes de fase aguda, estas últimas aumentadas en general en las trombocitosis secundarias a inflamación, infección o neoplasia. En grado variable, puede apreciarse aumento de la LDH y de la vitamina B_{12}, hiperuricemia e hiperpotasemia espúrea[72]. El 3% de los pacientes presenta una gammapatía monoclonal. La agregación plaquetaria puede mostrar hipoagregabilidad frente a la adrenalina, ADP y colágeno o agregación espontánea.

El mielograma constata una intensa hiperplasia megacariocítica (fig. 16.4), y el hierro medular y los sideroblastos son normales o están disminuidos, sin que tal disminución refleje necesariamente la existencia de ferropenia[73]. El cariotipo de médula ósea acostumbra a ser normal, y la frecuencia de alteraciones citogenéticas es inferior al 5%. Se han descrito deleciones del brazo largo del cromosoma 20 (del20q) y 13 (del13q) y trisomías 8 y 9. El estudio citogenético por FISH de los cromosomas citados anteriormente detecta alteraciones en el 15% de pacientes[74]. El reordenamiento del gen *BCR/ABL* debe ser negativo[75].

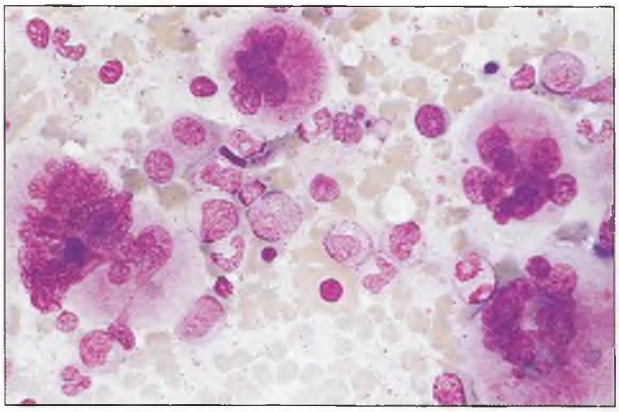


Figura 16.4. Frotis de médula ósea de TE con megacariocitos de gran talla (tinción de May-Grünwald-Giemsa, ×500).

La biopsia medular es normocelular o discretamente hipercelular, con conservación del tejido adiposo, aumento de megacariocitos de gran tamaño y núcleo multilobulado, que se disponen en acúmulos (*clusters*). La granulopoyesis y la eritropoyesis no se hallan incrementadas. La reticulina es normal o mínimamente aumentada.

El cultivo *in vitro* de progenitores eritroides y megacariocíticos de sangre periférica presenta un característico patrón de crecimiento denominado endógeno (formación espontánea de colonias en ausencia de citocinas en el medio de cultivo) en el 70-90% de pacientes[76].

Diagnóstico

La ausencia de un marcador citogenético o molecular característico en la TE determina que su diagnóstico se base en criterios de exclusión respecto al resto de SMPC que pueden cursar con trombocitosis y a las trombocitosis secundarias. El grupo Polycythemia Vera Study Group propuso en 1986 unos criterios diagnósticos que fueron modificados en 1997 y que constituyen el estándar diagnóstico de referencia de la enfermedad[77,78] (tabla 16.12). La OMS estableció en 2001 unos criterios diagnósticos que son similares a los del PVSG, pero en los que se precisan con mayor detalle las características de la histopatología medular y se matizan a través de las concentraciones de hemoglobina y de determinadas alteraciones citogenéticas y de displasia morfológica, los criterios de exclusión de la PV y de los síndromes mielodisplásicos, respectivamente[27] (tabla 16.13). Por el momento, los criterios denominados de diagnóstico «positivo», entre otros, la detección de clonalidad mieloide por HUMARA, la expresión del gen *PRV-1* (sobreexpresado en el 50% de los pacientes) y el crecimiento endógeno de progenitores eritroides y/o megacariocíticos, presentes en un porcentaje variable de pacientes, no se han consensuado como criterios diagnósticos[79].

Diagnóstico diferencial

En la tabla 16.14 se describen las diferentes entidades o situaciones que deben contemplarse en el diagnóstico diferencial de la TE. La diferenciación con la policitemia vera que cursa con marcada trombocitosis inicial (el 10% de pacientes con PV se inicia con plaquetas > 1.000 × 10^9/L) se

TABLA 16.12

Criterios diagnósticos de la trombocitemia esencial del PVSG (1997)

I. Recuento de plaquetas > 600 × 10^9/L
II. Hematocrito < 0,40 L/L o masa eritrocitaria normal (< 25% v.n.)
III. Hierro medular presente o ferritina sérica normal o VCM normal*
IV. Ausencia de cromosoma Ph o de reordenamiento del gen *BCR/ABL*
V. Fibrosis colágena de la médula ausente o < 1/3 del área de la biopsia, sin esplenomegalia ni síndrome leucoeritroblástico acompañante
VI. Ausencia de evidencia morfológica o citogenética de síndrome mielodisplásico
VII. Ausencia de causa conocida de trombocitosis reactiva

*Si la ferritina o el VCM sugieren ferropenia, no puede excluirse la policitemia vera, a menos que un tratamiento con hierro no incremente la masa eritrocitaria a cifras policitémicas.

TABLA 16.13

Criterios diagnósticos de la trombocitemia esencial de la OMS (2001)

Criterios positivos
1. Trombocitosis persistente ≥ 600 × 10^9/L
2. Biopsia medular que muestre proliferación de la serie megacariocítica con incremento de megacariocitos maduros y de gran tamaño

Criterios de exclusión
1. No evidencia de PV
   – Masa eritrocitaria normal o Hb < 185 g/L (V), 165 g/L (M)
   – Hierro medular presente, ferritina normal o VCM normal
   – Si las condiciones anteriores no se cumplen, ausencia de aumento de la masa eritrocitaria o de la Hb a cifras de PV después de tratamiento con hierro
2. No evidencia de LMC (no cromosoma Ph o gen de fusión *BCR/ABL*)
3. No evidencia de mielofibrosis idiopática
   – Ausencia de fibrosis colágena; fibrosis reticulínica mínima o ausente
4. No evidencia de síndrome mielodisplásico
   – Ausencia de: del(5q), t(3;3)(q21;q26), inv(3)(q21;q26)
   – Ausencia de displasia granulocítica, o escasos micromegacariocitos si están presentes
5. Ausencia de causa de trombocitosis reactiva por inflamación, infección, neoplasia o esplenectomía

TABLA 16.14

Diagnóstico diferencial de la trombocitemia esencial

Síndromes mieloproliferativos crónicos
Policitemia vera
Leucemia mieloide crónica
Mielofibrosis idiopática

Síndromes mielodisplásicos
Anemia refractaria sideroblástica
Síndrome 5q–

Trombocitosis reactiva
Esplenectomía, hipoesplenismo, agenesia esplénica
Anemia ferropénica
Hemorragia aguda
Anemias hemolíticas
Infecciones
Enfermedades inflamatorias crónicas
Neoplasias epiteliales
Linfoma de Hodgkin y no hodgkiniano
Cirugía
Vincristina
Rebote postratamiento en déficit de B_{12} o fólico

establece mediante la determinación isotópica con ^{51}Cr de la masa eritrocitaria. Cabe recordar que sólo este método puede situar con precisión el aumento o normalidad de la citemia cuando el hematocrito se halla comprendido entre 0,43 y 0,57 L/L. El reordenamiento del gen *BCR/ABL* descarta, en caso de que el cariotipo sea Ph negativo, la leucemia mieloide crónica de inicio trombocitémico, variante clínica que cursa con escasas o moderadas esplenomegalia, leucocitosis, basofilia y mielemia[80]. Actualmente, no se acepta el diagnóstico de TE Ph positiva.

La mielofibrosis idiopática en fase celular y con mínima esplenomegalia puede plantear dificultades diagnósticas con la TE. La resonancia magnética (RM) es útil en esta circunstancia, pues muestra ausencia de modificación de la señal vertebral y reconversión femoral nula por preservación del tejido adiposo en la TE, a diferencia de lo que sucede en la mielofibrosis[81]. Un aspecto que merece comentario por sus connotaciones pronósticas y terapéuticas es la diferenciación con la fase prefibrótica de la mielofibrosis idiopática, fase en la que puede no estar presente la esplenomegalia, síndrome leucoeritroblástico o poiquilocitosis características de una mielofibrosis típica. En esta circunstancia, el diagnóstico correcto puede ser difícil, pero la observación minuciosa de la histología medular puede orientar correctamente el diagnóstico. La fase prefibrótica se distingue, de acuerdo con Thiele, por un aumento global de la celularidad, con incremento de la granulopoyesis neutrófila y megacariocitos con núcleos anormalmente lobulados (en forma de nube) y cromatina de aspecto atípico, con presencia de formas de pequeño tamaño evidenciables con tinciones inmunohistoquímicas (CD61). Asimismo, puede observarse cierto grado de proliferación vascular y la presencia de nódulos linfoides[82].

La tinción de Perls en la anemia refractaria sideroblástica, y la morfología megacariocítica y la citogenética en el síndrome 5q–, excluyen dichas variedades de síndromes mielodisplásicos que pueden cursar con trombocitosis.

La VSG y las proteínas reactantes de fase aguda, como el fibrinógeno y la proteína C reactiva, se consideran parámetros analíticos útiles para diferenciar una trombocitosis clonal de una reactiva, pues su aumento sugiere esta última, siempre que exista un contexto clínico sugestivo. No obstante, en ocasiones una trombocitosis secundaria persistente de etiología oculta o silente, clínicamente, puede simular y ser muy difícil de diferenciar de una TE. El cultivo *in vitro* de progenitores mieloides circulantes establece la naturaleza reactiva al

demostrar de forma constante ausencia de crecimiento endógeno en las trombocitosis secundarias, aunque debe recordarse que el 10-30% de pacientes con TE no muestran crecimiento endógeno. Las concentraciones sanguíneas de TPO no han demostrado ser útiles como parámetro discriminatorio entre trombocitosis clonales y secundarias, pues en las trombocitosis secundarias la TPO es normal o alta, ya que su síntesis se halla incrementada a través de la IL-6, interleucina elevada en estados inflamatorios y que determina un aumento de la síntesis del RNAm de la TPO en el hígado.

Un aspecto que se debe considerar en el diagnóstico diferencial de la TE es el estudio de trombocitosis asintomáticas moderadas, motivo frecuente de consulta clínica, en particular, cuando no se detecta una causa evidente secundaria. Ruggeri ha demostrado que el riesgo de desarrollar una TE varía según el grado inicial de trombocitosis. Así, en los pacientes con trombocitosis superiores a 600 × 10^9/L, se diagnosticó una TE en el 50% de casos, y recomienda en esta situación proceder a una investigación diagnóstica completa. Por el contrario, en los individuos con trombocitosis entre 400 y 600 × 10^9/L, la probabilidad de desarrollar una TE a los 5 años es sólo del 1%, sugiriendo una reevaluación cada 2 años[83].

Evolución

La historia natural de la TE demuestra que el riesgo espontáneo de transformación aguda es inferior al 1%, y que dicho riesgo aumenta de forma variable según el tratamiento citorreductor aplicado[84] . Por este motivo, y dada la aparente normal esperanza de vida de los pacientes, la elección del tratamiento debe sopesarse cuidadosamente. Una revisión[85] efectuada en 1994 sobre 50 casos de transformación aguda señalaba que el intervalo medio desde el diagnóstico hasta la transformación era de 6 años, y que los subtipos FAB más frecuentes correspondían a M4 y M7. Se han descrito todos los subtipos citológicos mieloides y también, pero más raramente, leucemias agudas linfoides y síndromes mielodisplásicos, todo ello en el contexto de tratamientos quimioterápicos. Las leucemias agudas que aparecen en los pacientes tratados con hidroxiurea presentan, en la mayoría de casos, una deleción 17p o síndrome 17p, caracterizado adicionalmente por disgranulopoyesis (vacuolización y seudo Pelger) y mutación de la p53[86].

El 5-10% de pacientes puede evolucionar a una mielofibrosis postrombocitémica[87], y en el 5% de pacientes se observa durante su evolución la aparición de un fenotipo clinicobiológico indistinguible de una PV.

Tratamiento

Consideraciones generales

Cualquier decisión respecto al tratamiento ha de considerar, en primer lugar, que la TE es un SMPC que afecta más a la calidad de vida que a la supervivencia del paciente. No obstante, y a pesar de que la supervivencia es casi idéntica a la de una población control[88], los pacientes presentan una elevada morbilidad de complicaciones trombóticas y/o hemorrágicas que oscilan desde síntomas funcionales por alteración de la microcirculación hasta complicaciones potencialmente mortales. No existen tratamientos exentos de riesgo y, por tanto, está poco justificado iniciar un tratamiento mielodepresor o citorreductor plaquetario sólo porque la cifra de plaquetas exceda un límite arbitrario, por ejemplo, de 1.000 × 10^9/L. Por otra parte, es comprensible que una cifra elevada de plaquetas preocupe al paciente y al médico por el temor a una repentina y grave complicación trombótica. La inclinación a prescribir quimioterapia es grande, pero debe recordarse que ésta, una vez introducida, debe continuarse durante años o décadas, con las implicaciones leucemógenas que ello pueda suponer.

Trombocitoaféresis

La trombocitoaféresis consigue una rápida reducción de la cifra de plaquetas, aunque su efecto es transitorio, a no ser que se aplique simultáneamente un tratamiento mielodepresor. Su principal indicación es en el tratamiento de las situaciones agudas con riesgo vital causadas por complicaciones trombóticas o hemorrágicas que cursan con trombocitosis muy elevadas.

Quimioterapia

Una primera premisa en el tratamiento mielodepresor de la TE es que el fármaco escogido posea un escaso potencial de aumentar el riesgo de transformación aguda. Históricamente, los primeros agentes utilizados en el tratamiento de la TE fueron los alquilantes, melfalán, clorambucilo, busulfán y fósforo radiactivo. Actualmente, y a pesar de la gran eficacia de los alquilantes en el control de la trombocitosis, ya no se consideran como tratamiento de primera línea, debido a su potencial leucemógeno. Tan sólo, en determinadas circunstancias, como en el caso de pacientes de edad muy avanzada o en los de difícil seguimiento clínico, puede utilizarse el ^{32}P o el busulfán, por su comodidad de administración y mantenida mielodepresión, conseguida sin necesidad de un tratamiento diario continuado y frecuentes controles.

La *hidroxiurea*, agente no alquilante e inhibidor de la ribonucleótido reductasa, es el quimioterápico de elección, por su facilidad de uso, predictibilidad de acción y supuesta escasa capacidad mutágena. Este fármaco ha demostrado ser muy efectivo en la prevención de nuevos episodios trombóticos en pacientes con alto riesgo de presentar complicaciones trombóticas[89]. No obstante, la hidroxiurea por ella misma o cuando después de su fracaso se utiliza secuencialmente un alquilante, se ha implicado en casos de transformación aguda[78,86]. Su uso como monoterapia determina un riesgo estimado de transformación aguda que oscila entre el 3,5 y el 10% a los 4-10 años de haber iniciado el tratamiento[90], riesgo difícilmente aceptable en el tratamiento de pacientes jóvenes. En dosis de 30 mg/kg/día la primera semana, seguida de 15 mg/kg/día, controla la trombocitosis en 2-6 semanas en más del 90% de pacientes[77]. Una práctica habitual suele ser iniciar el tratamiento con 1.000 mg/día, hasta ajustar la dosis que consiga el control de la trombocitosis sin producir anemia ni leucopenia. Requiere administración continua, pues si se suspende, la trombocitosis reaparece de forma rápida. La neutropenia y la macrocitosis son los principales efectos tóxicos a corto plazo. La macrocitosis es tan constante que, en caso de no observarse, ha de hacer considerar que exista una ferropenia concomitante. Otros efectos secundarios incluyen alteraciones cutáneas y úlceras en las extremidades.

En un ensayo aleatorizado sobre 809 pacientes de alto riesgo que comparó hidroxiurea más aspirina frente a anagrelida

más aspirina, hidroxiurea demostró ser superior a anagrelida en la reducción de trombosis arterial, hemorragia grave y transformación mielofibrótica. Por el contrario, anagrelida fue superior a hidroxiurea en la reducción de episodios de tromboembolismo venoso. En conjunto, dicho ensayo recomienda hidroxiurea como primera línea de tratamiento en pacientes de alto riesgo[90bis].

El *pipobromán*, con una estructura química similar a la de los alquilantes, también es muy efectivo, aunque en nuestro medio no es tan utilizado como la hidroxiurea; induce una respuesta hematológica completa en el 90% de pacientes en dosis de 0,8 a 1 mg/kg/día en 1,5-3 meses, con dosis de mantenimiento de 0,3-0,6 mg/kg/día[90]. El tratamiento de 118 pacientes de alto riesgo y con una mediana de seguimiento de 10 años, evidenció un riesgo acumulado de leucemia aguda, mielofibrosis y tumores sólidos a los 10 años, del 3, 2 y 7%, respectivamente[91]. El ^{32}P se utiliza a las mismas dosis que las indicadas en la PV.

Un aspecto práctico que se debe recordar en el tratamiento quimioterápico de la TE es que el objetivo citorreductor que hay que conseguir debe ser una cifra de plaquetas normal ($\leq 400 \times 10^9$/L), no «inferior» a 600×10^9/L, por lo menos en los pacientes con historia previa o presentación al diagnóstico de trombosis.

Interferón

El interferón (IFN) ha demostrado ser una posible opción de citorreducción no quimioterápica en la TE. El efecto antiproliferativo resulta de la reducción del volumen nuclear y citoplasmático del megacariocito. El IFN también antagoniza la acción del PDGF. Con una dosis de 3 millones de unidades diarias, consigue el 90% de respuestas en un plazo de 1 a 3 meses[92]. Las dosis de mantenimiento son inferiores (3 millones), tres veces por semana. A pesar de que es un tratamiento sin efectos mutágenos ni leucemógenos, su coste es alto y su toxicidad determina que el 25% de los pacientes abandonen el tratamiento, ya sea por efectos seudogripales o constitucionales (fatiga, anorexia, adelgazamiento) o por efectos tardíos de tipo neuropsiquiátrico o autoinmune. No se recomienda en pacientes de edad avanzada, y su principal indicación es en las mujeres embarazadas, por la ausencia de efecto teratógeno (no parece atravesar la barrera placentaria) y en los pacientes que no responden a la anagrelida o a la hidroxiurea. El interferón pegilado podría constituir una alternativa válida al interferón recombinante, por su administración semanal, pero debe establecerse todavía la dosis óptima y conocer con mayor detalle sus efectos adversos a corto y a largo plazo.

Antiagregantes plaquetarios

En pacientes con alteraciones de la microcirculación (AIT, eritromelalgia, otros síntomas vasomotores), el AAS en dosis de 100-300 mg/día es muy eficaz en el tratamiento de los síntomas agudos. Su mecanismo de acción se debe a la reducción de la agregación plaquetaria como consecuencia del efecto inhibidor de la ciclooxigenasa y, por tanto, de la producción de tromboxano A_2, metabolito que aumenta cuando se produce activación plaquetaria *in vivo*. En dosis de 100 mg/día ha demostrado reducir la incidencia de trombosis en pacientes con cifras de plaquetas inferiores a 1.000×10^9/L y/o ausencia de sangrado[93]. Se halla contraindicado en pacientes con clínica de predominio hemorrágico y en pacientes con trombocitosis superior a $1.000\text{-}1.500 \times 10^9$/L. Se desconocen los efectos de los antiagregantes del grupo de las tienopiridinas, como el clopidogrel, en la profilaxis primaria antitrombótica de la TE y de la PV.

Anagrelida

La anagrelida es el último y más prometedor fármaco del que se dispone para el tratamiento de la TE. Pertenece a la familia de las imidazoquinazolinas, y actúa interfiriendo en la maduración megacariocítica, disminuyendo la ploidía y el tamaño celular. En dosis de 0,5 mg, cuatro veces al día, reduce la cifra de plaquetas por debajo de 600×10^9/L en el 90% de pacientes, en un plazo comprendido entre 3 y 4 semanas[94]. Aproximadamente, dos tercios de los pacientes refractarios a la hidroxiurea responden a la anagrelida[90]. Los principales efectos secundarios son cardiovasculares, y derivan del efecto vasodilatador periférico e inotrópico positivo. El efecto vasodilatador determina la aparición de cefaleas, y es el efecto secundario más frecuente, observándose en un tercio de pacientes. Los efectos cardíacos incluyen palpitaciones, taquicardia, y se ha descrito insuficiencia cardíaca congestiva y, de forma excepcional, cardiomiopatía. La historia de cardiopatía debería contraindicar su uso, y parece prudente efectuar una evaluación cardiológica antes de su prescripción. Otros efectos adversos incluyen diarrea y retención de líquidos. En conjunto, los efectos secundarios de la anagrelida ocasionan que un porcentaje variable de pacientes abandonen el tratamiento[95,96]. El pequeño tamaño de su molécula impide su administración durante el embarazo, por la posibilidad de que atraviese la barrera placentaria. Su principal indicación sería en los pacientes jóvenes con elevado riesgo trombótico, y en los refractarios o que no toleran la hidroxiurea o el IFN.

Trasplante de progenitores hematopoyéticos

Existe escasa experiencia en el trasplante de progenitores hematopoyéticos de pacientes con TE y PV en fase avanzada de la enfermedad. En una serie de 25 pacientes se observó que los mejores resultados se obtuvieron en los pacientes en fase de mielofibrosis postrombocitémica o pospolicitémica, con la característica añadida de una escasa incidencia de recurrencia. Los pacientes trasplantados en fase de leucemia aguda o síndrome mielodisplásico presentaron una elevada mortalidad relacionada con el trasplante[97].

Estrategia general

La estrategia terapéutica en la TE es un compromiso entre prevenir la aparición de complicaciones trombohemorrágicas y evitar, en la medida de lo posible, la toxicidad del tratamiento específico. La primera consideración debe ser la de evaluar individualmente el riesgo trombótico, estadificando a los pacientes en grupos de riesgo[98] (tabla 16.15). Existe consenso general sobre la indicación de tratamiento citorreductor en pacientes de *alto riesgo*, es decir, de más de 60 años, con historia de trombosis o de clínica hemorrágica grave. La trombocitosis superior a 1.500×10^9/L también se considera, en general, una indicación aceptada de citorreducción.

Los pacientes asignados a la categoría de *bajo riesgo* no deben recibir tratamiento citorreductor, pues se ha demostrado que la incidencia de trombosis en este grupo es muy escasa y no justifica un tratamiento activo[99]. Los pacientes de

TABLA 16.15

Estadificación de riesgo trombótico en la trombocitemia esencial

Bajo riesgo
Edad < 60 años, y
ausencia de historia de trombosis, y
plaquetas < 1.500 × 10^9/L, y
ausencia de factores de riesgo cardiovascular

Alto riesgo
Edad ≥ 60 años, o
historia previa de trombosis

Tomada de la referencia bibliográfica 98.

menos de 40 años de edad y de bajo riesgo nunca deberían tratarse, por la escasa incidencia de complicaciones trombóticas y/o hemorrágicas[100]. Una excepción a la premisa de no aplicar un tratamiento citorreductivo a los individuos de bajo riesgo de menos de 60 años sería en el caso de cirugía mayor, situación en la que es aconsejable normalizar previamente la cifra de plaquetas y mantener su control durante el postoperatorio.

La modificación de los hábitos de vida en lo que respecta a los factores de riesgo vascular también es imperativa, independientemente del grupo de riesgo, debiéndose corregir enérgicamente dichos factores. El tabaco es, probablemente, trombogénico y, al parecer, incluso puede inhibir la acción antiagregante del AAS.

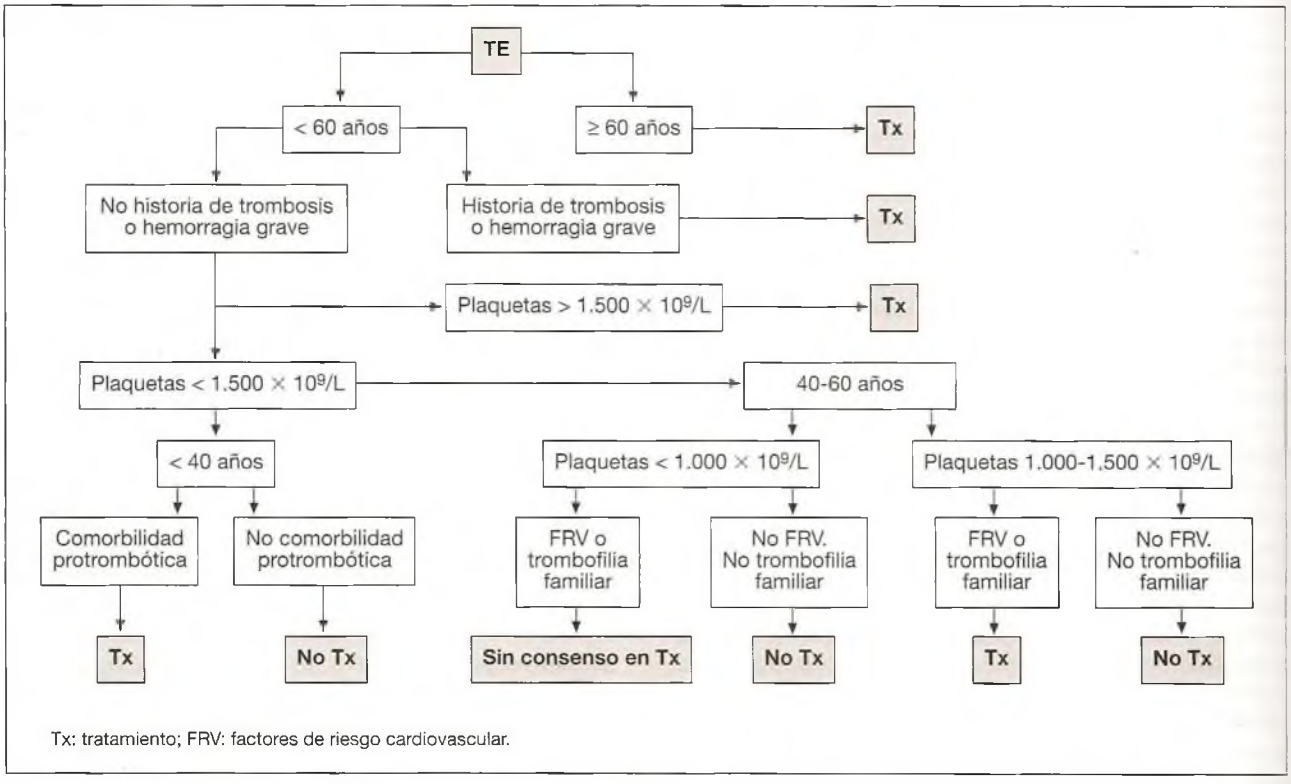
En los pacientes que pertenecen a la categoría de *riesgo intermedio*, es decir, de menos de 60 años, sin historia de trombosis, pero con trombocitosis superior a 1.000-1.500 × 10^9/L o con presencia de factores de riesgo vascular, el tratamiento debe ser individualizado, informando al paciente de los riesgos potenciales frente a los beneficios de iniciar un tratamiento citorreductor plaquetario. Los pacientes con síntomas microcirculatorios que no responden a los antiagregantes serían candidatos a citorreducción plaquetaria.

Un aspecto fundamental que siempre se debe tener en cuenta respecto al tratamiento quimioterápico es que se ha de evitar en la medida de lo posible la combinación secuencial de antimetabolitos y alquilantes, por ejemplo, la utilización de busulfán después del fracaso de hidroxiurea, pues en este contexto es muy elevada la incidencia de leucemia aguda, síndrome mielodisplásico u otras neoplasias[101].

La figura 16.5 muestra el algoritmo de decisión terapéutica propuesto por la Sociedad Italiana de Hematología, basado en una revisión exhaustiva de la literatura[102].

Pronóstico

Los estudios clínicos retrospectivos sugieren que la esperanza de vida en la TE no es sustancialmente diferente a la de una población control[88]. Un reciente estudio de Passamonti sobre 435 pacientes indica que la supervivencia a los 15 años es del 73%, y que una historia de trombosis es el principal factor pronóstico de supervivencia. Asimismo, dicho autor registra un riesgo acumulado de trombosis, leucemia aguda mieloide y mielofibrosis postrombocitémica a los 15 años del 17, 2 y 4%, respectivamente[103]. Las diferentes causas de fallecimiento en más de 2.000 pacientes, y sobre un 9,6% de mortalidad global, se repartieron en el 3,1% para la trombosis, el 0,3% para las complicaciones hemorrágicas, el 1,1% para la transformación aguda y el resto para neoplasias sólidas y causas desconocidas[46].



Tx: tratamiento; FRV: factores de riesgo cardiovascular.

Figura 16.5. Algoritmo de decisión terapéutica en la trombocitemia esencial.

BIBLIOGRAFÍA

1. Briere J, El-Kassar N. Clonality markers in polycythaemia and primary thrombocythaemia. Baillière's Clin Haematol 1998; 11(4): 787-801.
2. Silva M, Richard C, Benito A, Sanz C, Olalla I, Fernández-Luna JL. Expression of Bcl-x in erythroid precursors from patients with polycythemia vera. N Engl J Med 1998; 338:564-571.
3. Moliterno AR, Hankins D, Spirak JL. Impaired expression of the thrombopoietin receptor by platelets from patients with polycythemia vera. N Engl J Med 1998; 338:572-580.
4. Klippel S, Pahl HL. Molecular markers for the diagnosis of Philadelphia chromosome negative myeloproliferative disorders. Pathol Biol (París) 2004; 52;267-274.
5. Finazzi G, Caruso V, Marchioli R et al. Acute leukemia in polycythemia vera. An analysis of 1.638 patients enrolled in a prospective observational study. Blood 2005; 105:2664-2670.
6. Spivak JL. Polycythemia vera: myths, mechanisms, and management. Blood 2002; 100:4272-4290.
7. Bilgrami S, Greenberg BR. Polycythemia Rubra Vera. Semin Oncol 1995; 22:307-326.
8. Gruppo Italiano Studio Policitemia. Polycythemia vera: the natural history of 1.213 patients followed for 20 years. Ann Intern Med 1995; 123:656-664.
9. Spivak J. Daily aspirin-Only half the answer. N Engl J Med 2004; 350:99-101.
10. Barbui T, Finazzi G. Risk factors and prevention of vascular complications in polycythemia vera. Semin Thromb Hemost 1997; 23:455-461.
11. Marchioli R, Finazzi G, Landolfi R et al. Vascular and neoplastic risk in a large cohort of patients with polycythemia vera. J Clin Oncol 2005; 23:2224-2232.
12. Schafer AI. Bleeding and thrombosis in myeloproliferative disorders. Blood 1994; 64:1-9.
13. Ferrant A. What clinical and laboratory data are indicative of polycythemia and when are blood volume studies needed? Nouv Rev Fr Hematol 1994; 36:151-154.
14. Woessner S, Florensa L. La citología óptica en el diagnóstico hematológico. Madrid. Acción Médica, 2000.
15. Murphy S. Polycythemia Vera. Disease-a-Month 1992; 38(3):157-212.
16. Mossuz P, Girodon F, Donnard M et al. Diagnostic value of serum erythropoietin level in patients with absolute erythrocytosis. Haematologica 2004;89:1194-1198.
17. Cazzola M. Serum erythropoietin concentration as a diagnostic tool for polycythemia vera. Haematologica 2004; 89:1159-1160.
18. Díez-Martín JL, Graham DL, Pettit RM, Dewald GW. Chromosome studies in 104 patients with polycythemia vera. Mayo Clin Proc 1991; 66:287-299.
19. Najfeld V, Montella L, Scalise A, Fruchtman S. Exploring polycythaemia vera with fluorescence in situ hybridization:additional cryptic 9p is the most frequent abnormality detected. Br J Haematol 2002; 119:558-566.
20. Florensa L, Besses C, Almarcha J et al. Circulating erythroid and megakaryocytic progenitors in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. Eur J Haematol 1989; 43:417-422.
21. Kralovics R, Skoda RC. Molecular pathogenesis of Philadelphia chromosome negative myeloproliferative disorders. Blood Rev 2005; 19:1-13.
22. Pearson TC. Diagnosis and classification of erytrocytoses and thrombocytoses. Baillière's Clin Haematol 1998; 11(4):695-720.
23. Gordeuk VR, Stockton DW, Prchal JT. Congenital polycythemias/ erythocytoses. Haematologica 2005; 90:109-116.
24. Lamy T, Devillers A, Bernard M et al. Inapparent polycythemia vera: an unrecognized diagnosis. Am J Med 1997; 102:4-20.
25. Berlin NI. Diagnosis and classification of the polycythemias. Semin Hematol 1975; 12:339-351.
26. Pearson TC. Evaluation of diagnostic criteria in polycythemia vera. Semin Hematol 2001; 38(Suppl 2):21-24.
27. WHO. Tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Press, 2001.
28. Cazzola M, Skoda R. Gain of function, loss of control. A molecular basis for chronic myeloproliferative disorders. Haematologica 2005; 90:871-874.
29. Prchal JT. Polycythemia vera and other primary polycythemias. Curr Op Hematol 2005; 12:112-116.
30. Finazzi G, Marco R, Marconi M, Rodeghiero F, Barbui T. The natural history of idiopathic erythrocytosis:a cohort study of 74 patients. Blood 2004; 104(11):1506a.
31. Najean Y, Rain J-D. The very long-term evolution of polycythemia vera: an analysis of 318 patients initially treated by phlebotomy or 32P between 1969 and 1981. Semin Hematol 1997; 34:6-16.
32. Silver RT. Interferon Alfa: effects of long-term treatment for polycythemia vera. Semin Hematol 1997; 34:40-50.
33. Berk PD, Wasserman LR, Fruchtman SM, Goldberg JD. Treatment of polycythemia vera: a summary of clinical trials conducted by the Polycythemia Vera Study Group. En: Wasserman LR, Berk PD, Berlin NI (eds.). Polycythemia vera and the myeloproliferative disorders. Filadelfia: WB Saunders, 1995; 166-194.
34. Balan KK, Critchley M. Outcome of 259 patients with primary proliferative polycythaemia (PPP) and idiopathic thrombocythaemia (IT) treated in a regional nuclear medicine department with phosphorus-32. A 15 year review. Br J Radiol 1997; 70:1169-1173.
35. Passamonti F, Brusamolino E, Lazzarino M et al. Efficacy of pipobroman in the treatment of polycythemia vera: long-term results in 163 patients. Haematologica 2000; 85:1011-1018.
36. Fruchtman SM, Mack K, Kaplan ME, Peterson P, Berk PD, Wasserman LR. From efficacy to safety: a Polycythemia Vera Study Group report on hydroxyurea in patients with polycythemia vera. Semin Hematol 1997; 34:17-23.
37. Landolfi R, Marchioli R, Kutti J et al. Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. N Engl J Med 2004; 350:114-124.
38. Fruchtman SM, Wasserman LR. Therapeutic recommendations for polycythemia vera. En: Wasserman LR, Berk PD, Berlin NI (eds.). Polycythemia Vera and the Myeloproliferative Disorders. Filadelfia: WB Saunders, 1995; 337-349.
39. Spivak JL, Barosi G, Tognoni G et al. Chronic myeloproliferative disorders. Hematology 2003. American Society of Hematology, Education Program Book.
40. Passamonti F, Malabarba L, Orlandi E et al. Polycythemia vera in young patients: a study on the long-term risk of trombosis, myelofibrosis and leukemia. Haematologica 2003; 88:13-18.
41. Gunz FW. Hemorrhagic thrombocythemia: a critical review. Blood 1960; 15:706-723.
42. Ozer FL, Truax WE, Miesch DC, Levin WC. Primary hemorrhagic thrombocythemia. Am J Med 1960; 28:807-823.
43. Fialkow PJ, Faguet GB, Jacobson RJ, Vaidya K, Murphy S. Evidence that essential thrombocythemia is a clonal disorder with origin in a multipotent stem cell. Blood 1981; 58:916-919.
44. Brière J, El-Kassar N. Clonality markers in polycythaemia and primary thrombocythaemia. Baillière's Clin Haematol 1998; 11(4): 787-801.
45. Zamora L, Espinet B, Florensa L, Besses C, Bellosillo B, Sole F. Clonality analisis by HUMARA assay in Spanish females with essential thrombocythemia and polycythemia vera. Haematologica 2005; 90:257-259.
46. Gugliotta L, Marchioli R, Fiacchini M et al. Epidemiological, diagnostic, therapeutic and prognostic aspects of essential thrombocythemia in a retrospective study of the GIMMC group in two thousand patients. Blood 1997; 90(Suppl):348a.
47. Picardi M, Martinelli V, Ciancia R et al. Measurement of spleen volume by ultrasound scanning in patients with thrombocytosis; a prospective study. Blood 2002; 99:4228-4230.
48. Elliott MA, Tefferi A. Thrombosis and haemorrhage in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. Br J Haematol 2004; 128:275-290.

CAPÍTULO 17

Síndromes mieloproliferativos crónicos. Leucemia mieloide crónica. Metaplasia mieloide agnogénica

F. Cervantes

ÍNDICE

Leucemia mieloide crónica
- Definición
- Etiología y epidemiología
- Manifestaciones clínicas
- Pruebas de laboratorio
  - *Sangre periférica*
  - *Médula ósea*
  - *Estudio citogenético y biología molecular*
  - *Otros datos de laboratorio*
- Diagnóstico
- Formas especiales de presentación
  - *Crisis blástica inicial*
  - *LMC de inicio trombocitémico*
  - *Variante neutrofílica de la LMC*
  - *LMC Ph-negativa*
  - *LMC de la infancia*
- Diagnóstico diferencial
- Evolución y pronóstico
- Tratamiento

Metaplasia mieloide agnogénica
- Concepto
- Etiopatogenia
- Manifestaciones clínicas
- Biología
- Anatomía patológica
- Otras exploraciones complementarias
- Diagnóstico
- Evolución y pronóstico
- Tratamiento

Bibliografía

LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA

Definición

La leucemia mieloide crónica (LMC), el síndrome mieloproliferativo crónico (SMPC) de mayor importancia clínica por su frecuencia y pronóstico, es una proliferación de carácter clonal que tiene su origen en una célula madre (*stem cell*) pluripotencial común a las tres series hematopoyéticas[1], si bien el cuadro clínico, biológico e histológico de la enfermedad viene determinado por una intensa proliferación de la serie granulocítica en la médula ósea, la sangre periférica y otros órganos hematopoyéticos, fundamentalmente el bazo. La LMC se caracteriza por una leucocitosis intensa, en la que están representados todos los elementos madurativos de la granulopoyesis, acompañada a menudo de esplenomegalia y de una disminución de la fosfatasa alcalina granulocitaria (FAG). Desde el punto de vista biológico, el hecho que confiere a la LMC una mayor personalidad es la presencia, en la mayoría de los pacientes, de una anomalía cromosómica en la médula ósea (el denominado cromosoma Filadelfia o Ph)[2], cuya contrapartida molecular es el oncogén *BCR/ABL*, reflejo del intercambio de material genético entre los cromosomas 9 y 22 en las células hematopoyéticas. La enfermedad presenta, típicamente, un curso evolutivo bifásico en el que, a la fase inicial o crónica, fácil de controlar con diferentes medidas terapéuticas, sigue un período agudo final o crisis blástica, similar a una leucemia aguda, pero de pronóstico mucho más desfavorable por su resistencia al tratamiento. En muchos pacientes se intercala entre ambas fases un tercer período, la llamada fase de aceleración.

Etiología y epidemiología

La etiología de la LMC se desconoce, aunque se ha observado un aumento de su incidencia tras la exposición a radiaciones ionizantes (en supervivientes de las explosiones atómicas, radiólogos y pacientes con espondilitis anquilosante tratados

con radioterapia sobre la columna vertebral) o a ciertos agentes químicos como el benceno. No se ha podido demostrar la implicación de virus en la aparición de la enfermedad.

La presencia del cromosoma Ph en los precursores granulocíticos, eritrocíticos, megacariocíticos, en los linfocitos B y en algunos linfocitos T de los individuos con LMC indica que el trastorno que da lugar a la enfermedad tiene lugar en una célula madre pluripotencial muy primitiva de la hematopoyesis. El origen común de las células hematopoyéticas de la LMC viene apoyado por estudios realizados en mujeres con LMC, heterocigotas para la glucosa-6 fosfatodeshidrogenasa (G-6-PD), las cuales presentan en dichas células un único tipo de isoenzima (la A o la B), mientras el resto de sus tejidos están constituidos por un 50% de células con la isoenzima A y otro 50% con la B[1]. Este último patrón isoenzimático se observa, asimismo, en los fibroblastos de la médula ósea, lo que indica que la fibrosis medular frecuente en los pacientes con LMC no forma parte de la proliferación neoplásica, sino que constituye un fenómeno reactivo o secundario a la misma. El estudio cromosómico de enfermos con mosaicismo sexual (es decir, con coexistencia de dos líneas celulares con diferente dotación cromosómica, por ejemplo, XY y XXY) ha corroborado el carácter clonal de la LMC, al observarse en estos casos el cromosoma Ph únicamente en una de las líneas celulares del mosaico.

El cromosoma Ph es un trastorno adquirido, consistente en la pérdida de material de los brazos largos de un cromosoma del par 22 por translocación al cromosoma 9[3]. Dicha alteración citogenética no es exclusiva de la LMC, pues también se observa en el 20% de las leucemias agudas linfoblásticas del adulto, en el 5% de las leucemias agudas linfoblásticas de la infancia y en menos del 3% de las leucemias agudas mieloblásticas. Mediante técnicas de biología molecular se ha podido demostrar que la translocación entre los cromosomas 22 y 9 es recíproca, es decir, que el cromosoma 9 también transfiere parte del material genético de sus brazos largos al cromosoma 22[4]. En este último, los puntos de rotura se agrupan en una pequeña región de 5,8 kilobases, denominada BCR (*breakpoint cluster region*)[5], constituyéndose el oncogén *BCR/ABL* al unirse a la misma el material procedente del cromosoma 9 o protooncogén *ABL* (fig. 17.1)[6]. El oncogén *BCR/ABL* da lugar a un RNA mensajero quimérico *BCR/ABL* de 8,5 kilobases, que codifica la síntesis de una proteína tirosincinasa (la p210, de 210 kDa), encargada de regular el crecimiento y proliferación celular, cuya actividad está aumentada[7]. Esta proteína anómala sería la responsable de la transformación neoplásica de las células hematopoyéticas, hipótesis que viene apoyada por la observación de una enfermedad similar a la LMC en animales de experimentación, tras infundirles sus propias colonias hematopoyéticas previa incorporación a las mismas de la proteína p210 en los cultivos hematopoyéticos[8].

La LMC representa el 15-20% de todas las leucemias. Su incidencia en los países occidentales es, aproximadamente, de 1,5 nuevos casos por 100.000 habitantes y año. Puede aparecer a cualquier edad, pero es rara en la infancia y predominando en las edades media y avanzada de la vida, con una mediana de edad en el momento del diagnóstico de alrededor de los 50 años en las series recientes, y una incidencia máxima entre los 30 y los 60 años. Predomina ligeramente en varones, y su aparición familiar es excepcional.

Manifestaciones clínicas

La LMC se diagnostica en el 95% de los pacientes en la llamada *fase crónica*, cuyo inicio es habitualmente insidioso. El diagnóstico de la enfermedad va precedido en muchos enfermos por un período de unos meses en los que presentan síntomas inespecíficos (astenia, anorexia, pérdida de peso, febrícula, sudoración nocturna), en relación con la existencia de un estado de hipermetabolismo debido al aumento del recambio granulocitario, o molestias provocadas por la esplenomegalia (por lo general, dolor en el flanco izquierdo del abdomen o sensación de repleción posprandial y, con menor frecuencia, diarreas, dolor agudo en hipocondrio izquierdo irradiado al hombro, que aumenta con la respiración y se debe a un infarto esplénico). Otras manifestaciones clínicas, como los dolores óseos, hemorragias, litiasis renal, crisis de gota o priapismo, son mucho menos frecuentes, y son excepcionales los síntomas de leucostasis (cefalea, obnubilación, insuficiencia respiratoria, ángor) por leucocitosis extrema. Con todo, hay que destacar que la práctica creciente de análisis de revisión ha hecho que la frecuencia de formas asintomáticas de la LMC sea cada vez mayor, hasta constituir en la actualidad casi la mitad de los casos[9]. En estos pacientes, el diagnóstico de la enfermedad se establece de forma fortuita, tras el descubrimiento casual de leucocitosis o de una masa abdominal en una exploración sistemática o por otro motivo.

En la exploración física, el dato más frecuente es la esplenomegalia. Dicho hallazgo se constata actualmente en el 60% de los pacientes, y su tamaño es variable (desde un polo

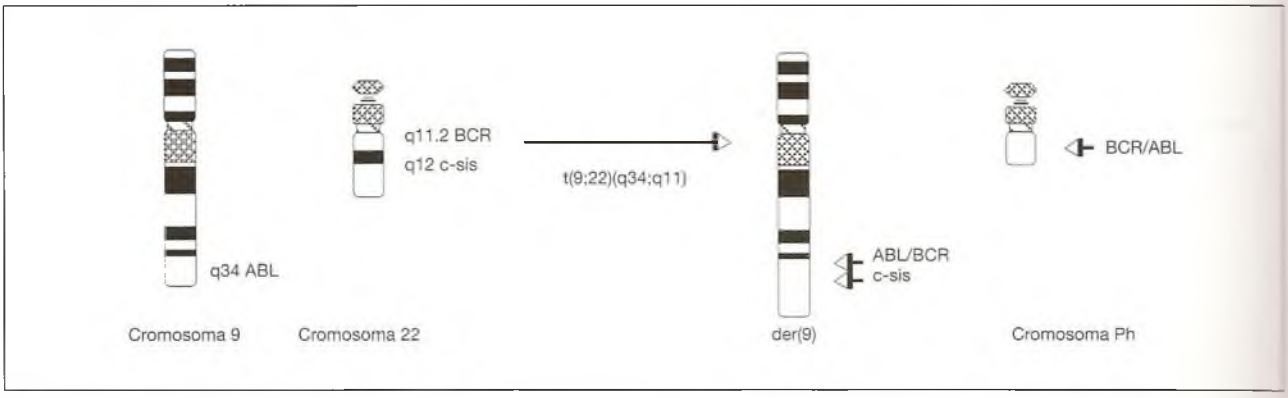


Figura 17.1. Representación esquemática de la translocación 9;22 y del reordenamiento BCR/ABL.

de bazo hasta la ocupación de todo el abdomen). En un tercio de los enfermos se detecta hepatomegalia, habitualmente moderada. El hallazgo de adenopatías, lesiones cutáneas infiltrativas u osteólisis en el estudio radiológico es raro y debe hacer sospechar en todos los casos la existencia de una crisis blástica extramedular.

Pruebas de laboratorio

Sangre periférica

El dato característico de la LMC es la leucocitosis, cuya intensidad es variable, oscilando en la mayor parte de los pacientes entre 50 y 200 × 10^9/L, aunque en algunos casos puede alcanzar los 500 × 10^9/L. Sin embargo, como se ha señalado, cada vez son más frecuentes los casos que cursan inicialmente con leucocitosis moderada (inferior al 50 × 10^9/L), constituyendo éstos en la actualidad el 30% del total. Se trata de una leucocitosis granulocítica, en la que se hallan representados todos los estadios madurativos de la granulopoyesis, con predominio de las formas más maduras, salvo por la mayor proporción de mielocitos que de metamielocitos (pico mielocitario). Por lo general, el porcentaje inicial de blastos en la sangre periférica (que constituye un factor pronóstico) es escaso. En algunos pacientes se observa una oscilación periódica de las cifras de leucocitos, que puede dificultar el tratamiento. La basofilia es prácticamente constante, siendo menos frecuente la eosinofilia. Puede observarse desgranulación de los neutrófilos o hiposegmentación nuclear (seudo Pelger-Hüet), aunque rara vez tan intensas como en las mielodisplasias. En la mitad de los casos existen eritroblastos circulantes. Es frecuente la anemia, habitualmente moderada. La cifra de plaquetas es normal o existe trombocitosis (45% de los casos), observándose con frecuencia alteraciones morfológicas de las plaquetas, así como núcleos de megacariocitos circulantes. La tendencia al sangrado que presentan algunos pacientes se explica por la existencia de alteraciones en el funcionalismo plaquetario. La disminución de la actividad de la FAG, que a menudo es de 0, es uno de los datos más típicos de la LMC, y puede ayudar en el diagnóstico diferencial con otras entidades. Dicha actividad puede aumentar con el embarazo, la ingesta de anovulatorios, las infecciones, los procesos inflamatorios crónicos o neoplásicos asociados y en la crisis blástica.

Médula ósea

El *aspirado medular* pone de manifiesto un intenso incremento de la celularidad hematopoyética, sobre todo de la serie granulocítica, con una relación mieloeritroide notablemente aumentada. Dentro de la serie granulocítica predominan los mielocitos y metamielocitos, mientras los blastos pocas veces superan el 5%. La basofilia es constante, y muy frecuente la eosinofilia. Asimismo, es frecuente la hiperplasia de los megacariocitos, a menudo de aspecto hipoploide. No es raro encontrar histiocitos azul marino o macrófagos que recuerdan a las células de Gaucher (aunque el examen ultraestructural permite diferenciarlos de éstas), debido al recambio celular aumentado. Por otra parte, es habitual observar una disminución del hierro medular y de los sideroblastos, hallazgo que rara vez traduce la existencia de una auténtica ferropenia, puesto que la ferritinemia y otros parámetros que reflejan el estado de los depósitos de hierro son normales en el 90% de los casos.

La *biopsia de médula ósea* evidencia un gran aumento de la celularidad hematopoyética, con intensa disminución o desaparición de la grasa, a diferencia de otros SMPC en los que ésta suele estar conservada. Las células predominantes son las granulocíticas en sus estadios más maduros, si bien con relativa frecuencia se observan focos de células inmaduras. También es frecuente la hiperplasia de los megacariocitos que, en algunos casos, se agrupan en cúmulos y a veces son de tamaño pequeño y núcleo hipolobulado, así como cierto grado de fibrosis reticulínica, pero rara vez fibrosis colágena, por lo menos en la fase crónica.

Estudio citogenético y biología molecular

El estudio citogenético de la médula ósea pone de manifiesto la presencia del cromosoma Ph en el 95% de los pacientes, por translocación 9;22 (q34;q11). En algunos casos, además de los cromosomas 22 y 9, se halla implicado en la translocación un tercer cromosoma (translocación compleja). Por otra parte, en menos del 10% de los enfermos se observa alguna otra anomalía cromosómica, además del cromosoma Ph, lo que conlleva un pronóstico desfavorable.

El análisis molecular del DNA de las células hematopoyéticas (obtenido de la médula ósea o, más comúnmente, del leucoconcentrado de sangre periférica) demuestra la existencia del gen de fusión *BCR/ABL*, no sólo en los casos en que el cromosoma Ph es positivo sino también en más de la mitad de los casos Ph-negativos. El análisis mediante la técnica PCR (*polymerase chain reaction* o reacción en cadena de la polimerasa) pone de manifiesto la presencia de RNA mensajero quimérico *BCR/ABL*, en sus isoformas b2a2 o b3a3, según la zona de la región mayor del gen *BCR* (M-bcr) en que se localice el punto de rotura (extremos 5' o 3') (fig. 17.2). Por último, la rara variante neutrofílica de la LMC Ph-positiva se ha asociado en algún estudio con la presencia del tránscrito e19a2 (c3a2)[10].

Otros datos de laboratorio

Entre los parámetros bioquímicos séricos destaca el aumento constante de la vitamina B_{12} y de sus proteínas transportadoras (transcobalaminas), el aumento muy frecuente de la LDH y algo menos del ácido úrico, todos los cuales reflejan el aumento del recambio granulocitario. Asimismo, es frecuente la disminución de la colesterolemia, que se normaliza al controlar la enfermedad con el tratamiento.

Diagnóstico

El cuadro clínico-hematológico de la LMC (leucocitosis granulocítica, con mielemia, basofilia, disminución del índice de FAG y esplenomegalia) es tan típico que su mera observación permite casi siempre establecer con certeza el diagnóstico de la enfermedad. La demostración del cromosoma Ph en la médula ósea o del gen de fusión *BCR/ABL* en la sangre periférica confirman el diagnóstico.

Formas especiales de presentación

Crisis blástica inicial

Como se ha señalado, en la mayoría de los enfermos la LMC se diagnostica en la fase crónica. Sin embargo, en aproximadamente el 5% de los casos la enfermedad se halla en fase de crisis blástica (CB), lo que indica que ha habido una fase cró-

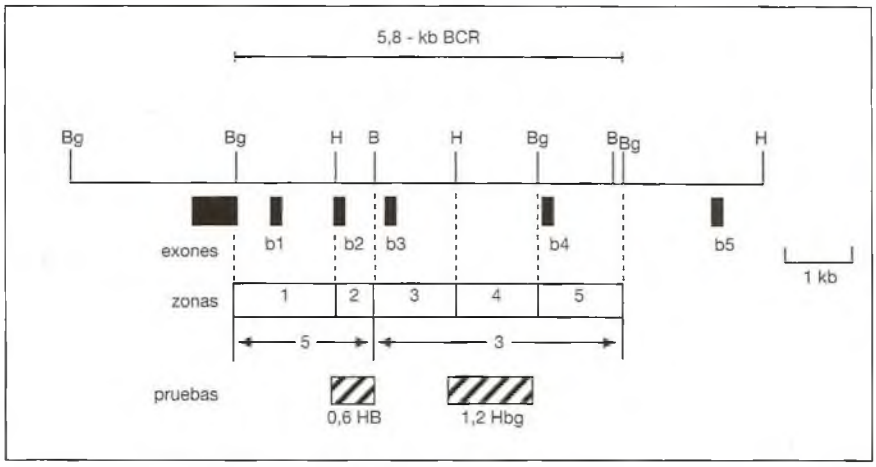


Figura 17.2. Representación esquemática de los puntos de rotura de la región M-bcr del cromosoma 22 en la leucemia mieloide crónica.

nica previa que no ha provocado síntomas y ha pasado desapercibida. La CB inicial de la LMC adopta dos patrones diferentes. En algunos pacientes, remeda una leucemia aguda, mientras que en otros, con localización extramedular de la proliferación blástica (fundamentalmente, en los ganglios), puede simular un linfoma. La presencia de datos sugestivos de LMC (esplenomegalia marcada, basofilia, mielemia, trombocitosis) permite sospechar el auténtico diagnóstico, que confirmará el estudio citogenético o molecular de la médula ósea o del órgano afectado, al demostrar la presencia del cromosoma Ph o el reordenamiento del gen *BCR/ABL*. No obstante, cabe señalar al respecto que, si bien en la CB extramedular el diagnóstico es por lo general muy claro, pues la sangre periférica y la médula ósea suelen ser típicas de LMC, en el caso de la CB inicial medular debe establecerse el diagnóstico diferencial con las leucemias agudas *de novo* Ph-positivas. Éstas suponen el 25% de las leucemias agudas linfoblásticas (LAL) del adulto, el 5% de los casos de LAL infantil y, aproximadamente, el 3% de las leucemias agudas mieloblásticas. Las leucemias agudas Ph-positivas pueden presentar dos patrones moleculares distintos, según que el punto de rotura de los brazos largos del cromosoma 22 se localice en las regiones mayor (M-bcr) o menor (m-bcr) del gen *BCR*, lo que da origen a dos proteínas con actividad tirosincinasa diferente (la p210 o la p190). Basándose exclusivamente en el patrón molecular no es posible distinguir la CB inicial de la LMC de la leucemia aguda Ph-positiva, por lo que es preciso valorar también los datos clínicos y hematológicos presentes en cada paciente. Con todo, en las leucemias agudas Ph-positivas, la combinación del estudio inmunofenotípico con el citogenético mediante la técnica de FISH (hibridación *in situ* fluorescente), permite identificar de manera más precisa las CB iniciales de fenotipo linfoide, al demostrarse en éstas la presencia del cromosoma Ph no sólo en las células blásticas sino también en las células de otras estirpes hematopoyéticas.

LMC de inicio trombocitémico

En una pequeña proporción de pacientes con LMC (7% del total en la serie del autor) el cuadro hematológico inicial puede simular una trombocitopenia esencial, al existir una trombocitosis intensa (superior a 1.000×10^9/L) y una cifra de leucocitos normal o moderadamente elevada (inferior a 20×10^9/L). Se trata de la LMC de inicio trombocitopénico[11]. En estos casos, la presencia de datos como basofilia y mielemia, poco habituales en la trombocitopenia esencial, pone sobre la pista del auténtico diagnóstico, que debe confirmarse mediante el estudio citogenético y molecular. Dicho diagnóstico conlleva importantes implicaciones terapéuticas y pronósticas, teniendo en cuenta la evolución invariable de estos pacientes hacia la crisis blástica, frente al pronóstico mucho más favorable, con rara evolución a leucemia aguda y supervivencia muy prolongada, de los sujetos con trombocitopenia esencial. Se ha descrito algún paciente en el que esta rara variante fenotípica de la LMC Ph-positiva se asociaba con un trânscrito de tipo c3a2 (también llamado e19/a2), debido a que el punto de rotura del cromosoma 22 se hallaba por fuera de la región M-bcr, en la denominada región micro-bcr (μ-bcr) del gen *BCR*.

Variante neutrofílica de la LMC

Otra variante fenotípica reconocida recientemente es la denominada forma neutrofílica de la LMC Ph-positiva. Desde el punto de vista hematológico, los pacientes con esta variante presentan un cuadro hemoperiférico superponible al de la leucemia neutrofílica crónica (por tanto, con leucocitosis neutrofílica habitualmente moderada, sin o con ligera mielemia) y una evolución lentamente progresiva. El rasgo que permite diferenciar ambas entidades es la presencia del cromosoma Ph en la variante neutrofílica de la LMC, frente a la ausencia invariable de dicha alteración en la leucemia neutrofílica crónica. En su descripción de este subtipo de la LMC, Pane et al lo asociaron a la presencia en estos casos del punto de rotura en la región μ-bcr, con producción de un RNA mensajero *BCR/ABL* de tipo c3a2 y de una proteína tirosincinasa diferente, la p230. Dicha asociación no se ha visto confirmada, sin embargo, en algún estudio más reciente en el que se analizaron algunos casos de LMC Ph-positiva de características similares, ninguno de los cuales presentaba el punto de rotura en la citada región.

LMC Ph-negativa

En el 5% de los casos de LMC no se observa el cromosoma Ph. Algunos de estos pacientes presentan reordenamiento del gen *BCR/ABL*, y en ellos la enfermedad es indistinguible de la LMC Ph-positiva, tanto en su presentación inicial como en su evolución y pronóstico. En cambio, existe un subgrupo de enfermos con LMC Ph-negativa en los que tampoco se detecta la contrapartida molecular del cromosoma Ph (LMC Ph-negativa *BCR/ABL*-negativa), los cuales suponen del 2 al

3% del total de casos de LMC. El diagnóstico de esta rara variante de la LMC obliga a descartar otras entidades, como las mielodisplasias (en particular, las formas proliferativas de la leucemia mielomonocítica crónica) o la fase celular de la mielofibrosis idiopática. La LMC Ph-negativa *BCR/ABL*-negativa presenta ciertos rasgos atípicos, como edad avanzada de la mayoría de los pacientes, mayor intensidad de la anemia en el momento del diagnóstico, ausencia de basofilia y tendencia a la leucocitosis progresiva y a la aparición de grandes visceromegalias e infiltración extramedular, anemia y plaquetopenia, sin llegar a presentar una crisis blástica franca en muchos casos[12]. Su pronóstico también es más desfavorable, con una supervivencia mediana de alrededor de 2 años.

LMC de la infancia

La LMC representa únicamente del 2 al 5% del total de casos de leucemia en la infancia, en la que se reconocen dos tipos de la enfermedad: la forma adulta y la juvenil. La primera se da en niños de más de 5 años, es Ph-positiva y similar en cuanto a sus características clínico-hematológicas y su pronóstico a la LMC Ph-positiva del adulto. En cuanto a la *forma juvenil,* se trata en realidad de una leucemia mielomonocítica subaguda o crónica de la infancia, con ciertos rasgos característicos, como la edad de los pacientes inferior a 5 años, presencia de erupciones cutáneas (a veces, en forma de xantomas), adenopatías u otras localizaciones leucémicas extramedulares, menor leucocitosis, con monocitosis y sin basofilia, frecuente anemia y plaquetopenia, existencia de alteraciones en los antígenos eritrocitarios y aumento de la hemoglobina fetal y de la muramidasa sérica y urinaria, así como resistencia a la quimioterapia y corta supervivencia de los enfermos (habitualmente, inferior a un año).

Diagnóstico diferencial

El diagnóstico diferencial de la LMC se establece en ocasiones con las formas proliferativas de la mielofibrosis idiopática y con las *reacciones leucemoides* (fundamentalmente, a infecciones o neoplasias diseminadas). En este último caso, aparte del diferente contexto clínico, la ausencia de esplenomegalia, la escasa o nula mielemia, la ausencia de basofilia y el aumento del índice de FAG orientan sobre la naturaleza de la leucocitosis, siendo definitivo el estudio citogenético de la médula ósea o el análisis molecular de la sangre periférica. La *leucemia neutrofílica crónica* es una entidad extremadamente infrecuente, en ocasiones difícil de diferenciar de las reacciones leucemoides, especialmente de las de origen paraneoplásico. Se caracteriza por leucocitosis basada en neutrófilos (sin mielemia ni basofilia), hepatoesplenomegalia, aumento de vitamina B_{12} y ácido úrico séricos, incremento del índice de FAG y ausencia del cromosoma Ph, coexistencia con una gammapatía monoclonal en un tercio de los casos y evolución ocasional a leucemia aguda. Se han descrito algunos casos Ph-positivos de esta rara entidad, en los que el punto de rotura del cromosoma 22 se situaría por fuera de la región M-bcr, en la región μ-bcr, lo que ocasionaría la producción de un RNA mensajero (c3a2 o e19a2) y una proteína tirosincinasa (p230) diferentes de los de la LMC convencional[10]. Por último, también debe mencionarse la leucemia eosinofílica, entidad mal definida y difícil de diferenciar, en la práctica, del llamado *síndrome hipereosinofílico idiopático,* que se caracteriza por una leucocitosis basada en eosinófilos (cuya cifra absoluta debe ser superior a $1,5 \times 10^9$/L) mantenida durante más de 6 meses, en ausencia de causas que la justifiquen (parasitosis, alergia, dermopatías, colagenosis, síndromes linfoproliferativos), con frecuente anemia y plaquetopenia, esplenomegalia e infiltración eosinofílica de diferentes órganos (entre ellos, corazón, SNC y piel), ausencia del cromosoma Ph y, por lo general, falta de respuesta a los corticoides[13], cuyo tratamiento de elección lo constituye en la actualidad el imatinib mesilato (anteriormente llamado STI571) o, en caso de resistencia a este fármaco, la hidroxiurea o el interferón alfa (INF-α).

Evolución y pronóstico

Como se ha señalado, la LMC se diagnostica en la inmensa mayoría de los pacientes en la fase crónica, fácil de controlar con diferentes medidas terapéuticas. Sin embargo, al cabo de una mediana de unos 5 años, la enfermedad entra en una fase agresiva, habitualmente resistente al tratamiento, la crisis blástica (CB) de la LMC, que es una auténtica leucemia aguda sobreinjertada en el curso crónico de la LMC. En muchos casos, el paso de la fase crónica a la CB se produce de forma brusca, mientras que en otros se pasa antes por un período intermedio, la denominada fase de aceleración.

La *fase de aceleración* se produce en el 45% de los casos de LMC, y en ella se observa cómo cambian las características clínicas y hematológicas de la enfermedad, sin que de momento aparezcan criterios de CB. Los pacientes pueden presentar fiebre, sudoración, pérdida de peso, dolores óseos intensos y persistentes o crecimiento progresivo del bazo, a pesar de ajustar el tratamiento. Ello suele acompañarse de la aparición de alteraciones hematológicas hasta entonces inexistentes, como anemia, plaquetopenia o trombocitosis intensa, basofilia marcada (> 20%), blastosis en sangre periférica o médula ósea mayor de lo habitual en la fase crónica, pero sin alcanzar los valores de la CB, o alteraciones citogenéticas adicionales al cromosoma Ph. De todos estos síntomas y alteraciones analíticas, los que permiten diagnosticar con mayor seguridad la fase de aceleración son la fiebre o la sudoración persistentes de origen inexplicado, los dolores óseos intensos y no atribuibles a otra causa, la esplenomegalia progresiva a pesar de un tratamiento adecuado, los porcentajes de blastos del 6 al 14% en sangre periférica o del 10-20% en médula ósea y la adquisición de nuevas alteraciones cariotípicas, pues la aparición de una o más de ellas precede de forma casi invariable a la aparición de la CB en menos de un año[14]. Algunos enfermos fallecen en la fase de aceleración (generalmente, por infección o hemorragia) sin llegar a presentar criterios francos de CB, pero lo habitual es que éstos acaben por aparecer en unos meses.

La *crisis blástica* (CB) es una de las hemopatías más agresivas y de peor pronóstico. En aquellos pacientes que no pasan por una fase de aceleración se asiste a la invasión rápida de la sangre periférica, la médula ósea y, a veces, otros órganos por células blásticas. Para el diagnóstico de CB se exige la presencia de cualquiera de los criterios detallados en la tabla 17.1. Desde el punto de vista clínico, se observa un rápido deterioro del estado general de los enfermos, que presentan astenia, anorexia, pérdida de peso, fiebre, sudoración profusa, dolores óseos intensos, molestias abdominales o infartos esplénicos por el crecimiento masivo del bazo, hepatomegalia marcada, síndrome anémico, infecciones (sobre todo pulmonares),

TABLA 17.1

Criterios diagnósticos de la crisis blástica de la leucemia mieloide crónica

Blastos ≥ 20% en médula ósea o ≥ 15% en sangre periférica
Blastos + promielocitos ≥ 50% en médula ósea o ≥ 30% en sangre periférica
Infiltración blástica extramedular (ganglios, SNC, periostio y otros)

hemorragias o síntomas de leucoestasis (en SNC, pulmones o miocardio). Estas tres últimas complicaciones constituyen las causas habituales de muerte[15]. Desde el punto de vista analítico, aparte de la blastosis periférica y medular, aparecen anemia y plaquetopenia. Los blastos suelen ser de fenotipo mieloide (puro o asociado a un componente megacarioblástico), si bien en el 25% de los casos expresan un fenotipo linfoide (casi siempre de estirpe B), existiendo asimismo CB de fenotipo eritroide[16]. Además del cromosoma Ph, en el 55-80% de los casos se observan alteraciones citogenéticas adicionales, la mayoría de las cuales corresponden a la trisomía 8 y la aparición de un segundo cromosoma Ph o un isocromosoma 17 (i17q), seguidas de las trisomías 19 y 21[17]. Cabe destacar que la CB de fenotipo linfoide presenta ciertos rasgos característicos, como su inicio habitualmente brusco (sin fase de aceleración previa), con escasa visceromegalia, infiltración masiva de la médula ósea por las células blásticas, ausencia de basofilia intensa y presencia excepcional de la alteración i17q[18].

Sin tratamiento, la supervivencia mediana de los pacientes con LMC es de 2,5 años[19]. Con la quimioterapia convencional esta supervivencia se alarga hasta los 4 o 5 años (según que el tratamiento consista en busulfano o hidroxiurea)[20] y con el interferón hasta los 6 años[21-24]. Algunos enfermos fallecen en la fase crónica, a menudo por causas no relacionadas con la enfermedad, y otros pocos en la fase de aceleración, pero en la mayoría de los pacientes la muerte sobreviene por evolución a CB, siendo la mediana de supervivencia desde el diagnóstico de dicha fase evolutiva de la LMC de sólo 4 a 5 meses[15]. Los principales factores pronósticos iniciales en los pacientes con LMC son la edad más avanzada, el mayor tamaño del bazo, la trombocitosis intensa (> 700 × 10^9/L), el porcentaje de blastos circulantes y la presencia de alteraciones citogenéticas adicionales al cromosoma Ph. En función de los cuatro primeros factores pronósticos y mediante la aplicación de la fórmula propuesta por Sokal et al[25].

$$\text{EXP}\,(0{,}0116\,[\text{edad} - 43{,}4] + 0{,}0345\,[\text{tamaño bazo} - 7{,}51] + 0{,}188\,([\text{plaquetas}/700)^2 - 0{,}563]) + 0{,}0887\,[\%\ \text{blastos sangre periférica} - 2{,}1]$$

Se puede calcular el riesgo relativo de cada paciente y distinguir tres grupos de enfermos, con diferente probabilidad de supervivencia: de bajo riesgo (riesgo relativo inferior a 0,8), de riesgo intermedio (entre 0,8 y 1,2) y de alto riesgo (superior a 1,2). En los pacientes tratados con interferón el logro de una respuesta citogenética mayor (≤ 35% metafases Ph-positivas en la médula ósea) es el factor pronóstico fundamental. Por otra parte, en estos pacientes, además de los cuatro factores pronósticos incluidos en la fórmula de Sokal, los porcentajes iniciales de basófilos y eosinófilos en la sangre periférica contribuyen a refinar el pronóstico mediante su inclusión en otra fórmula, el denominado índice de Hasford o *Euroscore*[26] (para cuyo cálculo puede entrarse en la siguiente web: www.pharmacoepi.de).

El nuevo fármaco imatinib mesilato, por su gran eficacia en cuanto a la obtención de respuesta hematológica y citogenética, es probable que alargue la supervivencia de los pacientes con LMC, pero el seguimiento de los enfermos que reciben este tratamiento es aún insuficiente. En los próximos años existe la intención de analizar los factores pronósticos de estos pacientes.

Tratamiento

Distinguiremos entre tratamiento convencional, INF-α, trasplante de progenitores hematopoyéticos en sus diferentes modalidades y el recientemente introducido inhibidor de la transducción de señal imatinib mesilato (STI571). En la figura 17.3 se presenta un algoritmo para el tratamiento de la LMC, en el cual la elección de la modalidad terapéutica se basa fundamentalmente en la edad de los pacientes, el grupo de riesgo

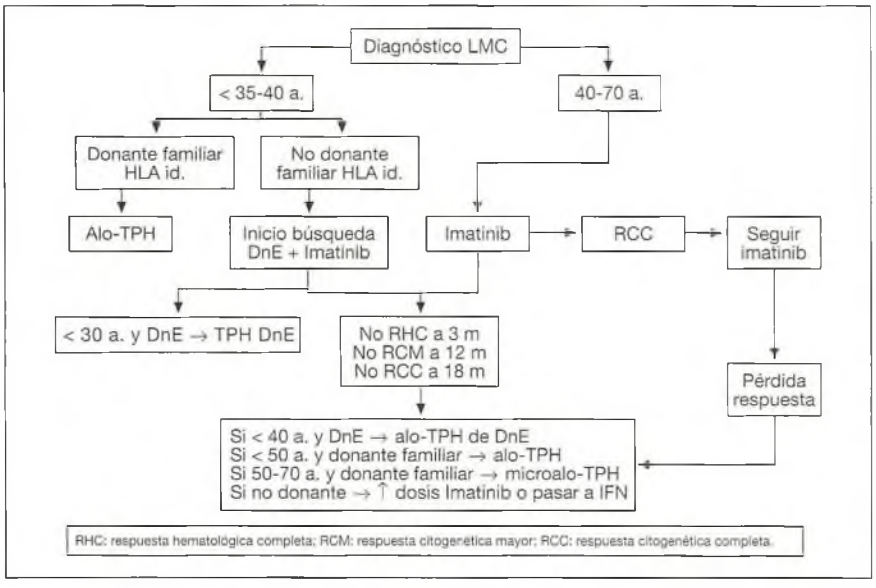


Figura 17.3. Algoritmo terapéutico para la leucemia mieloide crónica.

de la enfermedad, el hecho de que exista o no un donante para la práctica de un trasplante y el riesgo asociado a este procedimiento. Con todo, conviene señalar que en los últimos años el tratamiento de la LMC está siendo objeto de continuas modificaciones después de la introducción del imatinib.

Quimioterapia convencional

La quimioterapia convencional proporciona a los pacientes una excelente calidad de vida y alarga algo su supervivencia, pero no evita la aparición de la crisis blástica. El fármaco de elección es la *hidroxiurea*, inhibidor de la enzima ribonucleótido-reductasa que actúa bloqueando la síntesis de DNA, provocando la detención de las células en la fase S del ciclo celular. Se administra por vía oral, y tiene un efecto muy rápido aunque rápidamente reversible, lo que obliga a su administración continua. La dosis inicial es de 30 a 50 mg/kg/día (entre 1,5 y 3 g/día de dosis total), y la de mantenimiento suele oscilar entre 10 y 20 mg/kg/día. Sus principales efectos secundarios son la inducción de macrocitosis y megaloblastosis y la mucositis (fundamentalmente oral); es menos frecuente la aparición de úlceras en zonas maleolares y pies. Es probable que la hidroxiurea sea teratogénica si se administra durante el primer trimestre del embarazo.

Otro quimioterápico oral, el *busulfano*, fármaco alquilante de efecto radiomimético, constituyó durante muchos años la base del tratamiento convencional de la LMC, pero en la actualidad prácticamente ha dejado de utilizarse. La dosis es de 4 mg/día, por vía oral, debiendo interrumpirse su administración cuando los leucocitos bajen de 15×10^9/L o las plaquetas de 100×10^9/L, pues el fármaco sigue actuando días después de su supresión, por lo que puede provocar aplasia medular grave.

Interferón alfa

El *interferón alfa* (INF-α) constituía hasta hace poco el tratamiento de elección de la fase crónica de la LMC en los pacientes jóvenes sin donante para el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos y en la mayoría de los restantes enfermos (de edad inferior a 70 años). Se trata de una glucoproteína con propiedades antiproliferativas, antivíricas e inmunomoduladoras, producida de manera natural por las células como respuesta a las infecciones víricas. Lo que hace más interesante al interferón es que, además de producir respuestas hematológicas (normalización de los valores hematológicos con desaparición de la sintomatología y la esplenomegalia), es capaz de inducir respuestas citogenéticas, esto es, la disminución e incluso desaparición del cromosoma Ph. El mecanismo de acción del interferón en la LMC no está del todo dilucidado. Se considera como uno de los mecanismos más probables su efecto restaurador de la adhesión de los progenitores leucémicos a la estroma medular a través de la corrección de la función anómala de los receptores α4α5/β1 de la integrina. Asimismo, se ha postulado el posible aumento de la presentación antigénica celular y del reconocimiento inmunológico de las células leucémicas por el sistema inmunitario.

La vía de administración del interferón es la subcutánea, y la dosis aconsejada, de 5 MU por metro cuadrado de superficie corporal, que, en cualquier caso, debe individualizarse al objeto de mantener un grado moderado de leucopenia (entre 3 y 4×10^9/L) sin llegar a provocar plaquetopenia intensa ($< 50 \times 10^9$/L). En fase crónica poco evolucionada (menos de un año de duración) se obtiene la remisión hematológica en el 70-80% de los pacientes, y en casi la mitad de ellos cierto grado de respuesta citogenética, si bien en sólo el 10% de los casos se logra una respuesta citogenética completa (RCC), es decir, la desaparición del cromosoma Ph[21-23], siendo excepcional que desaparezca el marcador molecular de la enfermedad. Los resultados son peores en la fase crónica más avanzada. El logro de una respuesta citogenética requiere un tratamiento prolongado (mediana de entre 9 meses y un año), por lo que debe administrarse el fármaco durante un mínimo de un año para valorar su efecto, si bien cabe señalar al respecto que algunos pacientes pueden necesitar un período más prolongado (hasta de dos años o más) para alcanzar una respuesta citogenética mayor (RCM). Posteriormente, debe hacerse un tratamiento de mantenimiento con la dosis de interferón necesaria para provocar una ligera leucopenia. Los factores pronósticos fundamentales para la obtención de una RCM son el que la LMC pertenezca al grupo pronóstico de «bajo riesgo», la ausencia de blastos en sangre periférica al diagnóstico, la ausencia de trombocitosis, mientras que sería un factor predictivo de su no obtención la falta de respuesta hematológica a los 6 meses de tratamiento. Los pacientes tratados con interferón ven prolongada significativamente su supervivencia (hasta una mediana de alrededor de 6,5 años) si se compara con la de los tratados con quimioterapia convencional, siendo en realidad aquellos en quienes se consigue una RCM los que influyen en mayor medida en la prolongación de la supervivencia global. El inicio del tratamiento con interferón conlleva numerosos efectos secundarios (fundamentalmente, sintomatología seudogripal), tanto más intensos cuanto más elevados son los recuentos leucocitarios, lo que sugiere un posible papel de la liberación de citocinas, por lo que es aconsejable disminuir los leucocitos a menos de 20×10^9/L mediante la administración de hidroxiurea antes de iniciar la del interferón. Dichos efectos secundarios se alivian con el empleo de paracetamol, y suelen ceder a las pocas semanas de iniciado el tratamiento. El empleo a largo plazo del interferón puede producir astenia, depresión, insomnio e impotencia. Es menos frecuente la aparición de alteraciones de carácter autoinmune (fenómeno de Raynaud, polimiositis, esclerodermia, lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, tiroiditis, vitíligo, anemia hemolítica, plaquetopenia u otros) o insuficiencia cardíaca.

La duración óptima del tratamiento con interferón en los pacientes que obtienen una RCC es objeto de controversia, ya que la persistencia de enfermedad detectable a nivel molecular suele ser la norma. La mayoría de autores aconsejan no interrumpir el tratamiento antes de los 2 años de la RCC mantenida. Lo que parece más determinante para adoptar esa decisión es el haber logrado la remisión molecular (lo que es excepcional) o que la enfermedad mínima residual sea de escasa cuantía y no aumente en determinaciones sucesivas. Por otra parte, se ha referido la aparición brusca de la crisis blástica en el 10% de los pacientes en RCC mediante interferón.

La combinación del interferón con *arabinósido de citosina en dosis bajas* por vía subcutánea (habitualmente, 20 mg/m^2/día 10 días al mes, administrado durante el primer año del tratamiento con interferón) aumenta la tasa de RCM y RCC al 35 y 15%, respectivamente[24], pero no se ha demostrado que prolongue la supervivencia con respecto a la monoterapia con interferón.

Trasplante de progenitores hematopoyéticos

El *trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos* (alo-TPH) es la única modalidad terapéutica con capacidad curativa demostrada de la LMC. Sus principales limitaciones son la edad de los pacientes y la disponibilidad de un donante histocompatible, habitualmente un hermano. En cuanto a la primera, los avances conseguidos en los últimos años en la profilaxis y tratamiento de las complicaciones infecciosas y la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH), principales causas de morbilidad y mortalidad en el alo-TPH, han permitido ampliar a los 55 años el límite de edad para la práctica del procedimiento. Por lo que respecta a la disponibilidad de donantes, la oferta puede ampliarse con el empleo de familiares que presentan diferencias menores con el paciente en alguno de los *loci* del sistema HLA[28] y, sobre todo, mediante la búsqueda a través de registros internacionales de individuos de fenotipo HLA similar al del enfermo[29-30].

Los resultados más favorables se obtienen cuando el trasplante se efectúa en la fase crónica, en la que se consigue una supervivencia libre de enfermedad a largo plazo superior al 60%[27]. Este porcentaje se reduce al 25% en la fase de aceleración y a menos del 10% en la crisis blástica (fig. 17.4), lo cual se halla en relación con la elevada mortalidad peritrasplante y con la alta probabilidad de recaída en dichos casos. Aparte de la fase de la enfermedad, otro factor importante para el éxito del trasplante es el intervalo desde el diagnóstico, ya que los resultados son significativamente mejores cuando dicho intervalo no supera el año, período que, según algún estudio, se ampliaría a dos años. Ello se explica por el aumento de la mortalidad de origen tóxico y por la mayor tasa de recaídas postrasplante en los pacientes con un tiempo más prolongado de evolución. Otros factores que influyen en los resultados del alo-TPH son la edad del receptor y la relación entre el sexo del donante y el del receptor. Así, los mejores resultados se obtienen en los pacientes más jóvenes, lo cual se halla en relación con la mayor frecuencia de complicaciones tóxicas graves, que condicionan una mortalidad peritrasplante más elevada en los enfermos de mayor edad. Por su parte, cuando el donante es una mujer y el receptor un varón la influencia negativa se debe al aumento en la incidencia y gravedad de la EICH, atribuible al reconocimiento de antígenos sexuales menores o a la aloinmunización de la mujer durante el embarazo. De esta forma, cuando los factores anteriormente citados son favorables, la supervivencia libre de enfermedad a largo plazo es superior al 80%. El European Bone Marrow Transplantation Registry publicó un sistema de puntuación que permite predecir los resultados del alo-TPH en la LMC basándose en el grado de compatibilidad entre receptor y donante, la fase de la enfermedad, la edad del paciente, el sexo de donante y receptor y el intervalo entre el diagnóstico y el trasplante.

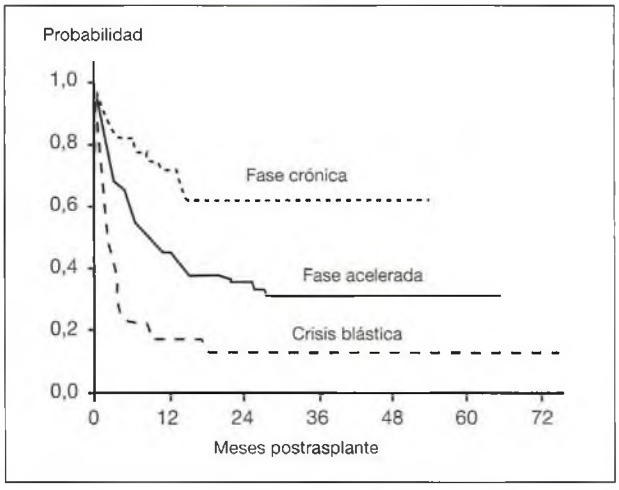


Figura 17.4. Supervivencia actuarial de los pacientes sometidos a trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos a partir de un donante HLA idéntico en las diferentes fases de la LMC (modificada de la serie del Registro Internacional de Trasplante de Médula Ósea).

La probabilidad de recaída después del trasplante cuando éste se realiza en la fase crónica de la LMC es del 20% a los 8 años del procedimiento, si bien la mayoría de recaídas se producen en los 3 primeros años. Dicha probabilidad aumenta sustancialmente si el trasplante se efectúa en las fases de aceleración o de crisis blástica (36 y 61% a los 3 años, respectivamente). El tratamiento de la recaída postrasplante incluye, en primer lugar, la supresión de la terapéutica inmunosupresora para intentar provocar un efecto injerto contra la leucemia. Si no se consigue dicho efecto, las posibilidades terapéuticas oscilan entre la práctica de un segundo trasplante, la administración de interferón en caso de recaída citogenética, la *infusión de linfocitos del donante* (ILD) y, más recientemente, el imatinib. La ILD, basada en la constatación de que el efecto injerto contra la leucemia desempeña un papel fundamental en la erradicación de la LMC mediante el trasplante alogénico, ha constituido hasta la introducción del imatinib el tratamiento fundamental de la recaída postrasplante, pues permite obtener remisiones duraderas en el 80% de los pacientes recaídos en fase crónica, frente a sólo el 20-30% en fases más avanzadas de la enfermedad. Para poder efectuar la ILD se aconseja que el paciente reúna los siguientes requisitos: ausencia de rechazo del injerto, demostración de quimerismo linfocitario y hematopoyético previo a la infusión, ausencia de EICH aguda activa mayor de grado I o EICH crónica extensa, buen estado general y valores hemoperiféricos aceptables. Las principales complicaciones de la ILD son la mielosupresión y la EICH aguda o crónica. La administración fraccionada de los linfocitos, con escalada progresiva de la dosis según la respuesta y la tolerancia, puede minimizar dichas complicaciones. Actualmente se está investigando el papel del imatinib, solo o asociado con ILD, en la recaída postrasplante.

El desarrollo de los registros internacionales permite encontrar en la actualidad un donante no emparentado en aproximadamente el 60% de los pacientes sin familiar histocompatible. Los resultados del *trasplante a partir de donantes no emparentados* (DNE) son más desfavorables que los del alo-TPH convencional[29,30], lo cual se debe en gran medida a la mayor frecuencia y gravedad de la EICH, si bien también existe una mayor incidencia de fallo del implante, tanto primario como secundario (10 y 7%, respectivamente). Así, con dicha modalidad de trasplante se obtiene una supervivencia a los 4 años de sólo el 35%, debido a la elevada mortalidad peritrasplante. La mortalidad es más alta en los pacientes de más de 30-35 años, por lo que en la práctica clínica muchos grupos han restringido este tipo de trasplante como opción terapéutica inicial a los individuos con LMC menores de dicha edad, valorando la posibilidad de realizar una prueba terapéutica con imatinib durante un año por encima de la

mencionada edad, por lo menos en los pacientes con enfermedad de «bajo riesgo», teniendo en cuenta la elevada probabilidad de obtener en esos casos una RCC y, por tanto, una supervivencia prolongada. Con todo, cabe señalar que el empleo de técnicas moleculares de alta resolución para el estudio HLA ha permitido mejorar considerablemente los resultados del trasplante alogénico de DNE, al posibilitar una selección más adecuada de los mismos. Además del mayor grado de identidad HLA entre receptor y donante empleando las citadas técnicas, los factores que determinan el éxito del alo-TPH de DNE son la menor edad del paciente, la fase crónica de la enfermedad, el intervalo entre diagnóstico y trasplante inferior a 1 año, la negatividad de la serología frente al citomegalovirus y la ausencia de EICH grave. De esta forma, en los pacientes que reúnen los anteriores requisitos se obtiene una SLE de entre el 65 y el 80% a los 3 años, con una baja tasa de recidiva (6% en los enfermos trasplantados en la fase crónica). Otra posibilidad para el trasplante alogénico en la LMC es la utilización de progenitores hematopoyéticos procedentes de un cordón umbilical compatible[31].

El *autotrasplante de progenitores hematopoyéticos* (ATPH) es una modalidad de trasplante no curativa que se ha empleado en enfermos con LMC sin donante para el trasplante alogénico y sin respuesta citogenética al interferón o con pérdida de la misma[32]. El fundamento para el ATPH lo constituye la presencia de progenitores hematopoyéticos benignos, sobre todo cuando la enfermedad no está muy evolucionada, en una proporción de pacientes con LMC. Dichos progenitores se obtienen habitualmente *in vivo*, mediante su movilización a la sangre periférica tras la administración de quimioterapia en dosis altas seguida de factor estimulante de colonias granulocíticas, tratamiento con interferón solo o con poliquimioterapia, o, más recientemente, tratamiento con imatinib. La principal limitación del ATPH radica en su falta de potencial erradicativo de la LMC[33]. En algunos pacientes se ha observado la reversión de la resistencia al interferón tras el ATPH. La elevada tasa de RCC al imatinib está convirtiendo en práctica habitual la obtención de progenitores hematopoyéticos benignos del paciente tras conseguirse una RCC, de cara a la práctica eventual de un ATPH en caso de pérdida de la respuesta.

Imatinib

El *imatinib mesilato* (anteriormente conocido como STI571) representa el avance más importante de los últimos años en el tratamiento de la LMC, constituyendo el paradigma de la terapéutica basada en el conocimiento de la biología y fisiopatología de una neoplasia. Se trata de un inhibidor de la transducción de señal específico de la proteína tirosincinasa BCR/ABL. Actúa compitiendo con el ATP para unirse a la cinasa ABL, impidiendo así la fosforilación de la proteína tirosincinasa. Ello da lugar a la pérdida de actividad de la citada proteína y, como resultado, a la pérdida de viabilidad de las células leucémicas, que entran en apoptosis. La actividad inhibidora del imatinib no es exclusiva de la proteína p210, pues se ejerce asimismo sobre el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y el receptor de c-kit. Tras demostrarse su actividad en estudios *in vitro*, en los que imatinib inhibía el crecimiento de líneas celulares Ph-positivas pero no el de líneas Ph-negativas, diversos estudios han puesto de manifiesto la eficacia antileucémica de dicho fármaco en las diferentes fases evolutivas de la LMC, fundamentalmente en la fase crónica. Así, la administración de imatinib en dosis superiores a 300 mg/día induce respuestas hematológicas completas en la mayoría de los pacientes con LMC en fase crónica resistentes al interferón o con intolerancia a este fármaco, con una tasa de RCM del 60%, entre las que se incluyen un 41% de RCC. En la fase crónica de un nuevo diagnóstico, la tasa de respuesta hematológica al imatinib es del 95%, la de RCM del 87% y la de RCC del 76% a los 18 meses, lo que va acompañado de una tasa menor de progresión de la enfermedad respecto a la combinación de interferón y Ara-C[34]. Estos resultados han permitido establecer el imatinib como el tratamiento de elección de la LMC de nuevo diagnóstico, relegando el trasplante alogénico como primera opción sólo para los pacientes jóvenes (< 30-40 años). La administración de imatinib produce con frecuencia efectos secundarios, que son habitualmente moderados y suelen observarse al principio del tratamiento. La toxicidad extrahematológica consiste fundamentalmente en edema (sobre todo palpebral), calambres, sintomatología gastrointestinal (epigastralgias, náuseas, diarreas), dolores óseos o musculares, erupción cutánea y alteración de las enzimas hepáticas. En cuanto a la toxicidad hematológica, es menos frecuente y consiste en neutropenia y plaquetopenia. Por otra parte, si bien el tratamiento con imatinib suele disminuir intensamente la enfermedad mínima residual, la remisión molecular no llega al 5% de los casos, por lo que de momento no ha demostrado su potencial curativo de la LMC. En la actualidad están en marcha diversos estudios multicéntricos encaminados a determinar si el aumento de dosis de imatinib (hasta 600 u 800 mg/día) o su asociación con otros fármacos (como interferón o Ara-C) es capaz de aumentar las remisiones moleculares. Por su parte, en la fase de aceleración, el imatinib, en dosis de 600 mg/día, obtiene una tasa de respuesta hematológica del 70% y de RCM del 13%.

Nuevos fármacos

Se está investigando en la actualidad el papel de otros fármacos en la LMC. En fase incipiente se encuentran estrategias como el empleo de vacunas derivadas de los péptidos de fusión del oncogén *BCR/ABL* o el de otros inhibidores de la transducción de señal, como el inhibidor de la farnesiltransferasa, que ha mostrado actividad *in vitro* en líneas celulares de LMC resistentes al imatinib en animales de experimentación.

Tratamiento de la crisis blástica

En la crisis blástica de fenotipo mieloide los resultados de la quimioterapia intensiva del tipo de la empleada en la leucemia aguda mieloblástica suelen ser decepcionantes, pues provoca pancitopenias intensas y prolongadas, con frecuentes complicaciones infecciosas, y obtiene respuestas favorables en menos del 20% de los casos. Por ello, la terapéutica de este subtipo de crisis blástica es fundamentalmente paliativa (transfusiones, analgesia, quimioterapia oral del tipo de la 6-mercaptopurina). Recientemente, se han referido resultados algo mejores con el empleo de imatinib. Así, en la crisis blástica mieloide se obtiene una tasa de respuestas hematológicas del 27%, con un 10% de remisiones completas, siendo éstas prolongadas en algunos casos. Por el contrario, en la crisis blástica de fenotipo linfoide, si bien la tasa de remisiones completas se acerca al 70%, su duración es escasa. Por ello, en la crisis blástica linfoide está indicado administrar pautas propias de la leucemia aguda linfoblástica (vincristi-

na, prednisona y un antraciclínico), con las cuales se obtienen respuestas favorables en el 60% de los casos[35], aunque siempre transitorias, ya que administrando imatinib, si bien la tasa de remisiones completas es elevada (70%), la duración de las mismas es habitualmente escasa. Por otra parte, en la crisis blástica extramedular está indicado administrar radioterapia sobre tumoraciones locales o, en el caso de localizaciones en el SNC, la quimioterapia intratecal (metotrexato y Ara-C).

Medidas complementarias y situaciones especiales

El tratamiento quimioterápico debe complementarse con una ingesta hídrica abundante y con la administración de alopurinol, al objeto de prevenir la nefropatía úrática, especialmente en la fase inicial del tratamiento.

En caso de priapismo por ingurgitación de los cuerpos cavernosos del pene, debido a hiperviscosidad sanguínea por la leucocitosis, están indicadas las leucaféresis para disminuir de forma rápida la cifra de leucocitos, medida que puede complementarse con la administración de hidroxiurea en dosis altas o de imatinib. Ello es igualmente aplicable a los pacientes con síntomas de leucostasis, si bien, como ya se ha señalado, dicha complicación es excepcional en la fase crónica de la LMC.

Durante el embarazo debe evitarse la administración de quimioterapia, por su posible efecto teratogénico sobre el feto, pudiéndose controlar la enfermedad mediante la práctica de leucaféresis o la administración de interferón.

La esplenectomía no se incluye hoy en día entre las medidas terapéuticas de aplicación en la LMC, pues no alarga la supervivencia de los pacientes y conlleva un alto riesgo quirúrgico. En cuanto a la radioterapia esplénica como tratamiento paliativo de la esplenomegalia masiva y dolorosa, va acompañada de efectos secundarios que rara vez quedan compensados por el beneficio obtenido, cuya duración es, además, habitualmente escasa.

Por último, en la crisis blástica el tratamiento quimioterápico debe acompañarse de soporte hemoterápico con concentrados de hematíes (y, eventualmente, de plaquetas si aparecen hemorragias) y tratamiento analgésico según los requerimientos, al objeto de aliviar los síntomas y mejorar la tolerancia de los pacientes en esta fase final de la enfermedad.

METAPLASIA MIELOIDE AGNOGÉNICA

Concepto

La fibrosis de la médula ósea puede aparecer de manera secundaria a la afectación de este órgano por diferentes procesos, entre los cuales destacan ciertas infecciones, como la tuberculosis, los tumores sólidos y diversas neoplasias hematológicas (enfermedad de Hodgkin, linfomas no hodgkinianos, tricoleucemia, síndromes mielodisplásicos, leucemia aguda u otras). De forma característica, dicha mielofibrosis secundaria revierte al remitir el proceso que la origina, y rara vez es lo suficientemente intensa como para provocar la aparición de hematopoyesis extramedular, aunque ello puede observarse ocasionalmente en individuos que han recibido radiaciones ionizantes o presentan tuberculosis, carcinomatosis diseminada, osteopetrosis o enfermedad de Paget. Cuando existe fibrosis de la médula ósea acompañada de metaplasia mieloide de otros órganos (fundamentalmente, el bazo y el hígado), el cuadro corresponde por lo general a la *metaplasia mieloide agnogénica* (MMA), también conocida como mielofibrosis idiopática o mielofibrosis con metaplasia mieloide, síndrome mieloproliferativo crónico caracterizado por una fibrosis intensa de la médula ósea que, en realidad, es secundaria a la proliferación clonal de una célula madre pluripotencial de la hematopoyesis[36]. Dicha enfermedad presenta como rasgos característicos, además de la fibrosis de la médula ósea y la metaplasia mieloide del bazo, anisopoiquilocitosis, hematíes en lágrima y síndrome leucoeritroblástico en la sangre periférica.

Etiopatogenia

La etiología de la MMA se desconoce. Estudios citogenéticos y de las isoenzimas de la glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa han permitido demostrar, por una parte, que la MMA es una enfermedad clonal que tiene su origen en una célula madre pluripotencial común a las tres series hematopoyéticas y, por otra, que los fibroblastos de la médula ósea no forman parte de la proliferación neoplásica. Así, la mitad de ellos presentan la isoenzima A y la otra mitad la B, al contrario de lo que ocurre con las células hematopoyéticas, las cuales expresan un único tipo de isoenzima (la A o la B), lo que demuestra su carácter clonal[36]. La proliferación fibroblástica de la médula ósea se debe fundamentalmente a la liberación intramedular de una sustancia, el denominado *platelet-associated growth factor* o factor de crecimiento asociado a las plaquetas, proteína de 30.000 Da producida por los megacariocitos y almacenada en los gránulos alfa de las plaquetas[37]. En este sentido, se ha observado que la hiperplasia de los megacariocitos, habitualmente con intensos rasgos displásicos, es constante en la MMA, siendo la fibrosis más intensa en las áreas de la médula ósea con mayor proliferación megacariocítica. Con todo, estudios recientes parecen indicar la intervención en la aparición de la fibrosis de otras citocinas, como el *transforming growth factor-B* (TGF-B), que regula la síntesis de la matriz extracelular, el *fibroblast growth factor* y la calmodulina, sustancia que actúa como mitógeno para los fibroblastos y cuyos niveles urinarios se hallan elevados en los individuos con MMA. Por lo que respecta a la hematopoyesis extramedular, se desconocen los mecanismos que conducen a su aparición, si bien se ha postulado que la existencia de hematopoyesis en el interior de los sinusoides venosos medulares dilatados podría ser el factor determinante, al permitir el paso de los progenitores hematopoyéticos a la circulación general y, a partir de ésta, su implantación en otros órganos.

Manifestaciones clínicas

La MMA constituye menos del 15% del total de casos de síndromes mieloproliferativos crónicos, y es la menos frecuente de las cuatro entidades que integran este grupo. Afecta habitualmente a personas de edad avanzada, con una mediana de edad al diagnóstico de alrededor de 65 años. No obstante, casi una cuarta parte de los pacientes con MMA tienen menos de 55 años, si bien la aparición de esta enfermedad por debajo de los 20 años es excepcional. La MMA no muestra un claro predominio sexual.

En los pacientes con MMA la sintomatología suele ser de inicio insidioso y reconoce tres orígenes fundamentales: la anemia (astenia, palidez, palpitaciones, disnea de esfuerzo, edemas, acufenos), el estado de hipermetabolismo (febrícula,

sudoración, pérdida de peso, anorexia, ocasionalmente gota o litiasis renal debidas a la hiperuricemia) y la esplenomegalia (molestias en hipocondrio izquierdo, dolor agudo en dicha zona que se irradia al hombro y traduce la existencia de un infarto esplénico, sensación de repleción posprandial, diarrea)[38]. Puede existir una tendencia al sangrado, en relación con la plaquetopenia o el mal funcionamiento de las plaquetas, y tampoco son raros el prurito y las complicaciones trombóticas, arteriales o venosas, entre las cuales se incluyen las que afectan a los vasos del eje esplenoportal. Con todo, en la actualidad el 30% de los pacientes con MMA están asintomáticos en el momento del diagnóstico, siendo el hallazgo de alteraciones analíticas o de esplenomegalia en una revisión sistemática lo que conduce al diagnóstico de la enfermedad[39]. En la tabla 17.2 se recoge la sintomatología inicial en la serie de pacientes con MMA del Hospital Clínic de Barcelona.

TABLA 17.2

Sintomatología inicial en la serie de 109 pacientes con metaplasia mieloide agnogénica del Hospital Clínic de Barcelona

Síntoma	Frecuencia (%)
Fiebre, pérdida de peso o sudación nocturna	40
Síndrome anémico	28
Molestias y/o dolor hipocondrio izquierdo	26
Diátesis hemorrágica	9
Gota y/o litiasis renal	4
Infección	2
Diarrea	2
Prurito	2
Ausencia de síntomas	26

El hallazgo fundamental de la exploración física es la esplenomegalia, presente inicialmente en el 85-90% de los pacientes y prácticamente constante si se considera la evolución posterior. El tamaño de la misma oscila entre el polo de bazo y la esplenomegalia gigante. Se observa hepatomegalia, habitualmente moderada, en el 60% de los casos. Aparte de la palidez propia de la anemia, no suelen encontrarse otros signos físicos. Las adenopatías y las lesiones cutáneas sobreelevadas de color rojo vinoso por metaplasia mieloide son raras en la fase inicial de la enfermedad, asociándose su presencia a las fases evolutivas muy avanzadas. Igual ocurre con los signos de hipertensión portal por metaplasia mieloide hepática o trombosis venosa del árbol esplenoportal.

Biología

La anemia, habitualmente normocroma y normocítica, constituye la manifestación más frecuente de la MMA, pues se observa en el 80% de los pacientes en el momento del diagnóstico, si bien en menos de la mitad de los casos es intensa en el período inicial. Su origen es multifactorial, y en su aparición intervienen fundamentalmente la disminución de la producción medular, un grado variable de eritropoyesis ineficaz y la hemólisis por hiperesplenismo o de origen autoinmune. En ocasiones puede contribuir a la misma la existencia de ferropenia o, más raramente, déficit de ácido fólico. El examen morfológico de la sangre periférica suele revelar policromasia, anisocitosis y poiquilocitosis, siendo típica la presencia de *dacriocitos* o hematíes en lágrima. Es asimismo característico el llamado *síndrome leucoeritroblástico*, es decir, la presencia de eritroblastos y células mieloides inmaduras (mielocitos, metamielocitos y a veces promielocitos y algún blasto) en sangre periférica[38]. La cifra de leucocitos es variable, pues puede ser normal, baja o existir leucocitosis, si bien es habitualmente moderada (rara vez superior a 30×10^9/L). Asimismo, puede observarse basofilia, aunque con menor frecuencia que en la LMC. Existe trombocitopenia en el 20% de los casos, y trombocitosis en el 25% (con valores que a veces obligan al diagnóstico diferencial con la trombocitopenia esencial). Son características las intensas alteraciones morfológicas de las plaquetas (anisocitosis, elementos gigantes, plaquetas azules o vacuolizadas), como expresión de la marcada distrombopoyesis existente en la MMA. Asimismo, se observan a menudo núcleos de megacariocitos circulantes. El índice de FAG se halla elevado en la mayoría de los pacientes. Por otra parte, los pacientes con MMA presentan un número muy elevado de células CD34+ en sangre periférica, hallazgo que puede contribuir al diagnóstico diferencial con otras hemopatías y cuya intensidad se correlaciona con el pronóstico de la enfermedad[40].

La alteración más constante de los parámetros bioquímicos es el aumento de la LDH, presente en el 85% de los casos. Se ha sugerido que dicho aumento se debe fundamentalmente al alto grado de eritropoyesis ineficaz existente en la MMA. Otras alteraciones son, por orden de frecuencia, el aumento de fosfatasa alcalina, vitamina B_{12} y ácido úrico, y la hipocolesterolemia. Con cierta frecuencia se detectan alteraciones de la inmunidad, como la presencia de complejos inmunitarios circulantes, anticuerpos antitisulares y, más raramente, crioaglutininas o positividad del test de Coombs. Para algunos autores dichos hallazgos apoyarían un origen autoinmune de la MMA, mientras que para otros se trataría simplemente de epifenómenos de la enfermedad.

La punción medular es infructuosa («punción blanca») en una elevada proporción de los casos, debido a la gran dureza del hueso. En las fases histológicas menos evolucionadas de la MMA se observa hiperplasia hematopoyética, con abundantes megacariocitos, los cuales suelen ser intensamente dismórficos. En cuanto al estudio citogenético, cuando no es posible obtener material de la médula ósea debido a la intensa fibrosis, puede intentarse su realización utilizando sangre periférica sin añadir mitógenos, siempre que existan células mieloides inmaduras circulantes. Cuando se obtienen metafases valorables se observan alteraciones cariotípicas en una cuarta parte de los casos: si bien no existe una alteracion citogenética específica de la MMA, las más frecuentes son las deleciones 13q (del13q) y 20q (del20q) y la trisomía 1q[41]. Por otra parte, la aplicación de técnicas de biología molecular ha permitido detectar deleciones de 13q14 hasta en el 30% de los casos, lo que ha hecho sugerir la posible existencia de un gen supresor tumoral a ese nivel, que podría desempeñar un papel en la aparición de la MMA.

Anatomía patológica

La práctica de una *biopsia de médula ósea* es imprescindible para establecer el diagnóstico de MMA, ya que es la única

manera de poner de manifiesto la fibrosis medular. Los hallazgos histológicos son de una gran heterogeneidad, y existen cuatro alteraciones fundamentales, cuya presencia e intensidad varían de uno a otro paciente: hiperplasia hematopoyética, fibrosis reticulínica, fibrosis colágena y neoformación ósea u osteoesclerosis. Cuando la fibrosis es intensa las células hematopoyéticas tienden a seguir la orientación de las bandas fibrosas. Asimismo, son llamativos los megacariocitos, que tienden a formar cúmulos y presentan intensas anomalías morfológicas, como hiposegmentación y picnosis nuclear. Entre los diversos intentos de sistematización de la histopatología medular de la MMA, el que ha conseguido una aceptación más generalizada ha sido el propuesto por Lennert et al[42], que distingue tres patrones fundamentales: *a*) fase celular (MF/C), en la que existe una intensa hiperplasia de las tres series hematopoyéticas y un grado variable de fibrosis reticulínica; *b*) mielofibrosis sin osteoesclerosis (MF/O–), en la que se observa fibrosis reticulínica y colágena pero no hay neoformación ósea (fig. 17.5a), y *c*) mielofibrosis con osteoesclerosis (MF/O+), en la que, además de la intensa fibrosis reticulínica y colágena, existe neoformación ósea (fig. 17.5b), tanto en las trabéculas (ribete osteoide) como en el interior de la cavidad medular, donde la celularidad hematopoyética prácticamente ha desaparecido. En la fase celular es frecuente observar una dilatación de los sinusoides venosos medulares que, a menudo, presentan focos de hematopoyesis en su interior. En una cuarta parte de los casos se observan nódulos linfoides en la médula ósea, siempre en las fases no osteoescleróticas de la enfermedad, hallazgo que, junto con las alteraciones de la inmunidad ya mencionadas, vendría a apoyar un posible origen inmunológico de algunos casos de MMA[43].

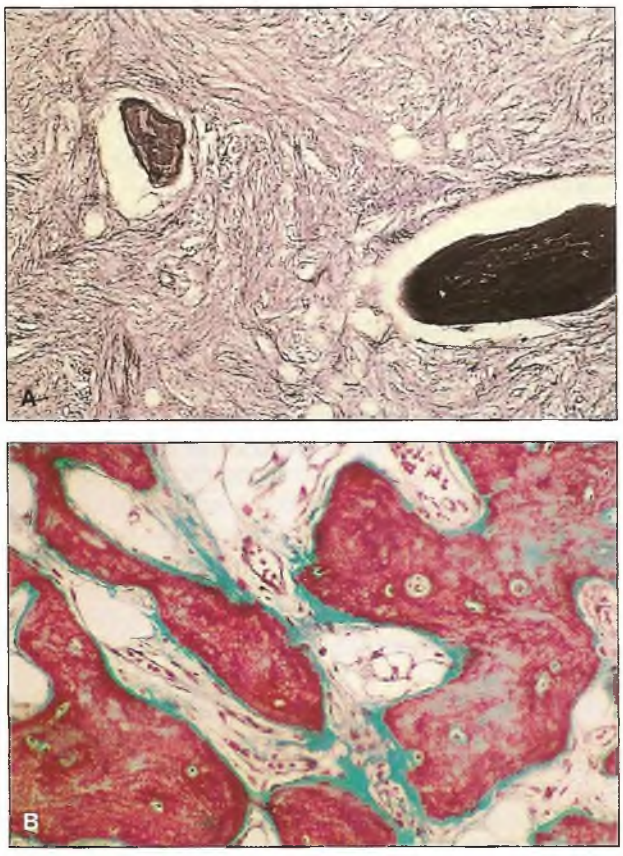


Figura 17.5. *a*) Fibrosis reticulínica difusa de la médula ósea en un paciente con mielofibrosis idiopática (tinción de Gomori, ×100); *b*) fase osteoesclerótica de la mielofibrosis idiopática, con presencia de fibrosis colágena, neoformación ósea y disminución de la celularidad hematopoyética (tinción tricrómica de Masson, ×100).

La punción esplénica para demostrar la existencia de metaplasia mieloide se ha dejado de realizar en los pacientes con MMA, dado el alto riesgo de sangrado debido al funcionalismo defectuoso de las plaquetas. El estudio histológico del bazo pone de manifiesto la *metaplasia mieloide* de la pulpa roja, con aumento de eritroblastos, células mieloides inmaduras y megacariocitos, de localización intrasinusoidal y extrasinusoidal. Si se realiza una biopsia hepática se observa, asimismo, metaplasia mieloide, por lo general intrasinusoidal y con predominio de los megacariocitos, además de dilatación sinusoidal, aumento de la trama reticulínica y depósito de hierro. No obstante, teniendo en cuenta el elevado riesgo hemorrágico de los pacientes con MMA, es aconsejable evitar la biopsia hepática si se sospecha dicha enfermedad.

Otras exploraciones complementarias

En la mitad de los pacientes con MMA, y en todos aquellos en los que ésta se halla en la fase de osteoesclerosis, la radiología ósea pone de manifiesto un aumento de la densidad ósea, sobre todo en el esqueleto axial (pelvis y columna) y porción proximal de los huesos largos, siendo mucho más rara la presencia de lesiones osteolíticas. La resonancia magnética (RM) de la columna vertebral demuestra una disminución de la señal, debido a la disminución de la grasa, provocada por la hiperplasia hematopoyética o bien por la intensa fibrosis o la neoformación ósea. En cuanto a los estudios ferrocinéticos y a la medición de la vida media eritrocitaria mediante métodos isotópicos, pueden contribuir a determinar el origen fundamental de la anemia en cada caso y ayudar en algunos enfermos a la hora de adoptar una decisión terapéutica.

Diagnóstico

El diagnóstico de MMA se basa fundamentalmente en la existencia de fibrosis de la médula ósea sin una causa que la justifique, ya que otros hallazgos, como la esplenomegalia, el síndrome leucoeritroblástico, la anisopoiquilocitosis y los dacriocitos, con ser muy frecuentes, pueden faltar en algunos casos, por lo menos al inicio de la enfermedad.

Dada la gran heterogeneidad en la forma de presentación de la MMA, su diagnóstico diferencial es muy amplio. En el caso de las formas más proliferativas, con leucocitosis o trombocitosis, el diagnóstico diferencial debe establecerse en primer lugar con otros síndromes mieloproliferativos crónicos (formas incipientes de la LMC, fases iniciales de la policitemia *vera* y ciertos casos de trombocitopenia esencial), así como con la leucemia mielomonocítica crónica y las reacciones leucemoides. En ocasiones, la existencia de pancitopenia y hepatoesplenomegalia hace considerar inicialmente la posibilidad de una hepatopatía crónica. Deben tenerse en cuenta, asimismo, otras enfermedades que afectan a la médula ósea y provocan fibrosis medular secundaria, como ciertas neoplasias (enfermedad de Hodgkin, linfomas no hodgkinianos, tricoleucemia, mielofibrosis aguda, otras mielodisplasias además de la leucemia mielomonocítica crón-

cia, carcinomatosis) o infecciones crónicas, como la tuberculosis, la brucelosis o la sífilis.

Evolución y pronóstico

La MMA sigue típicamente un curso crónico, caracterizado por la anemización progresiva, con el consiguiente requerimiento transfusional, las molestias derivadas del crecimiento del bazo y, con menor frecuencia, la presencia de síntomas constitucionales. Aunque la supervivencia media es de 4 a 5 años en las series más recientes[44], existe una gran heterogeneidad al respecto, pues algunos pacientes fallecen en 1 o 2 años mientras que otros sobreviven durante décadas. Parecen existir dos grupos de pacientes: uno mayoritario, en el que la enfermedad sigue un curso indolente y la supervivencia es muy prolongada (media de unos 8 años), y otro, que incluye entre un tercio y una cuarta parte de los enfermos, en el que la MMA se comporta de un modo más agresivo y su evolución es más bien subaguda (media de supervivencia de alrededor de 2 años). Los factores pronósticos fundamentales para distinguir estos dos grupos de pacientes al inicio de la enfermedad son, en primer lugar, la intensidad de la anemia (< 100 g/L), seguida de la cifra baja (< 4×10^9/L) o muy elevada (> 30×10^9/L) de leucocitos, la sintomatología constitucional, la presencia de blastos (≥ 1%) en sangre periférica y la existencia de alteraciones citogenéticas. En los enfermos menores de 55 años la supervivencia es más prolongada (mediana superior a 10 años), y en ellos los factores pronósticos son los mismos, permitiendo distinguir asimismo dos grupos pronósticos, con medianas de supervivencia de alrededor de 14 y 3 años, respectivamente[45]. Las infecciones, las hemorragias y las complicaciones vasculares constituyen las causas habituales de muerte. La probabilidad actuarial de evolución a leucemia aguda es del 20% a los 7 años del diagnóstico de MMA[46], si bien un estudio reciente indica que dicha probabilidad aumentaría de forma significativa en los pacientes sometidos a esplenectomía[47]. La leucemia aguda posmielofibrosis es, por lo general, de estirpe mieloide o mielomonocítica y, en menor medida, megacarioblástica, aunque puede estar implicada cualquier estirpe hematopoyética, siendo habitualmente escasa su respuesta al tratamiento. Una proporción de enfermos fallece por hipertensión portal o insuficiencia hepatocelular secundaria a la metaplasia mieloide masiva del hígado o por insuficiencia cardíaca de origen hemosiderótico.

Tratamiento

Aparte del trasplante alogénico, aplicable sólo a la minoría de pacientes jóvenes y con factores pronósticos desfavorables, no existe una terapéutica eficaz para la MMA y no se ha podido demostrar un posible efecto en cuanto a la prolongación de la supervivencia. Por tanto, en la mayor parte de los casos las medidas terapéuticas tienen un carácter meramente paliativo, y van destinadas a mejorar la calidad de vida de los enfermos. Teniendo en cuenta lo anterior, en aquellos pacientes sin sintomatología constitucional, con anemia moderada y bien tolerada, y con una esplenomegalia que no ocasiona excesivas molestias, la conducta inicial más correcta es la abstención terapéutica. Existen, sin embargo, algunas situaciones en las que es preciso adoptar una conducta terapéutica activa.

En las formas más mieloproliferativas de la enfermedad, con leucocitosis, trombocitosis, gran esplenomegalia y, a menudo, sintomatología general, está indicada la instauración de tratamiento citolítico oral, siendo la hidroxiurea el fármaco de elección en estos casos, si bien el busulfano y la 6-mercaptopurina pueden ser, asimismo, eficaces. También se puede conseguir un efecto citorreductor mediante la administración de IFN-α; sin embargo, el escaso efecto de este fármaco sobre la esplenomegalia y la anemia, y la mala tolerancia al mismo de unos pacientes de edad mayoritariamente avanzada hacen poco aconsejable su uso.

Cuando la anemia constituye la complicación fundamental de la MMA y no va acompañada de datos típicos de las formas muy proliferativas de la enfermedad, hay que descartar, en primer lugar, las causas tratables de anemia, como la ferropenia, el déficit de ácido fólico o la hemólisis de origen autoinmune. Si, como suele ser habitual, no se demuestra la existencia de un componente de ese tipo, debe iniciarse un tratamiento anabolizante, con oximetolona (150 mg/día) o danazol (600 a 800 mg/día), por vía oral, que será preciso mantener un mínimo de 6 meses para comprobar su posible eficacia[48]. Con ello se observa una respuesta favorable, con disminución y, en algunos casos, desaparición de los requerimientos transfusionales, en alrededor del 40% de los casos. Si el tratamiento anabolizante no es efectivo, los corticoides en dosis bajas (30 mg a días alternos) pueden proporcionar resultados favorables en algunos pacientes. La administración de eritropoyetina puede ser eficaz en los pacientes con niveles de esa citocina inadecuados al grado de anemia. Cuando los requerimientos de transfusiones de concentrados de hematíes son frecuentes es aconsejable realizar tratamiento quelante con deferoxamina, al objeto de evitar la sobrecarga férrica.

Si la esplenomegalia es muy marcada y ocasiona molestias mecánicas o citopenias intensas puede plantearse la esplenectomía. Sin embargo, debe sopesarse el alto riesgo quirúrgico, con una mortalidad operatoria del 10% y una morbilidad precoz del 45% (fundamentalmente, por hemorragia, infección y trombosis), así como la posible aparición de insuficiencia hepática postesplenectomía por metaplasia mieloide masiva hepática. Además, como se ha señalado anteriormente, se ha demostrado un aumento significativo en la evolución de la MMA a leucemia aguda tras la esplenectomía. Por todo ello, el empleo de esta medida terapéutica debe restringirse a pacientes cuidadosamente seleccionados que presenten hemólisis intensa resistente al tratamiento médico y/o plaquetopenia, esplenomegalia muy sintomática o hipertensión portal. En todo caso, la existencia de trombocitosis se considera una contraindicación para la esplenectomía.

La radioterapia esplénica en dosis bajas es una alternativa a la esplenectomía. Sin embargo, en la práctica, su efecto suele ser transitorio y la toxicidad hematológica, frecuente, por lo que rara vez proporciona un beneficio real a los pacientes. En cambio, la radioterapia constituye el tratamiento de elección en la metaplasia mieloide pleural o peritoneal que provocan derrame pleural o ascitis, así como en los casos de hematopoyesis extramedular que afecte a órganos vitales.

Recientemente, se han referido resultados favorables, fundamentalmente en la anemia y la plaquetopenia y, en menor grado, en la esplenomegalia, en algunos enfermos con MMA tratados con el fármaco antiangiogénico talidomida. La prin-

cipal limitación para este tratamiento radica en su elevada frecuencia de efectos secundarios, por lo menos cuando se administra en la dosis estándar[49]. Dicha tolerancia podría mejorarse, conservando la eficacia, mediante la administración de talidomida en dosis bajas (50 mg/día) asociada a prednisona (30 mg/día). Por otra parte, el imatinib es poco eficaz y excesivamente tóxico en los pacientes con MMA[50].

Entre los tratamientos de eficacia controvertida en la MMA deben incluirse la 1,25-dihidroxi-vitamina D (hidroxicalciferol) y la colchicina.

En pacientes menores de 55 años está indicado el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos si existe un hermano histocompatible o, en su defecto, en enfermos de menos de 40 años, un donante no emparentado. No obstante, debe considerarse que en la MMA la mortalidad peritrasplante es del 27%, con una tasa de recaída a los 4 años del 20%[51]. Por ello, al menos de entrada, por el momento es aconsejable reservar el trasplante alogénico para los enfermos con factores pronósticos desfavorables, ya que en el resto de pacientes la supervivencia media supera los 14 años. Por otra parte, en los pacientes mayores de 45 años, cuya mortalidad peritrasplante es muy elevada, se aconseja utilizar un régimen de acondicionamiento de intensidad reducida. De manera experimental, se ha realizado el autotrasplante en algunos pacientes con MMA, ya que su cantidad de *stem cells* hematopoyéticas circulantes es muy elevada. Si bien este tipo de tratamiento no tiene potencial curativo, podría hacer retrogradar la enfermedad a fases más precoces.

BIBLIOGRAFÍA

1. Fialkow PJ, Denaman AM, Jacobson RJ, Lowenthal MN. Chronic myelocytic leukemia. Origin of some lymphocytes from leukemic stem cells. J Clin Invest 1978; 62:158-163.
2. Nowell PC, Hungerford DA. A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. J Nat Cancer Inst 1960; 25:85-109.
3. Rowley JD. A new chromosomal consistent abnormality in chronic myelogenous leukemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa banding. Nature 1973; 243:290-293.
4. De Klein A, Van Kessel AG, Grosveld G, Bartram CR, Hagemeijer A, Bootsma D et al. A cellular oncogene is translocated to the Philadelphia chromosome in chronic myelocytic leukemia. Nature 1982; 300:765-767.
5. Groffen J, Stephenson JR, Heisterkamp N, de Klein A, Bartram CR, Grosveld G. Philadelphia chromosomal breakpoints are clustered within a limited region, bcr, on chromosome 22. Cell 1984; 36:93.
6. Heisterkamp N, Stephenson JR, Groffen J, Hansen PF, de Klein A, Bartram CR et al. Localization of the c-abl adjacent to a translocation breakpoint in CML. Nature 1983; 306:239-242.
7. Shtivelman E, Gale RP, Dreazen O, Berrebi A, Zaizav R, Kubonishi L et al. bcr-abl RNAm in patients with chronic myelogenous leukemia. Blood 1987; 69:971-973.
8. Daley GQ, Van Etten R, Baltimore D. Induction of CML in mice by the p210 bcr/abl gene of the Philadelphia chromosome. Science 1990; 247:824-830.
9. Cervantes F, Hernández-Boluda JC, Ferrer A, Cid J, Montserrat E. The changing profile of Ph-positive chronic myeloid leukemia at presentation: possible impact of earlier diagnosis on survival. Haematologica 1999; 84:324-327.
10. Pane F, Frigeri F, Sindona M, Luciano L, Ferrara F, Cimino R et al. Neutrophilic chronic myeloid leukemia: a distinct disease with a specific molecular marker (BCR/ABL with C3/A2 junction). Blood 1996; 88:2410-2414.
11. Cervantes F, Colomer D, Vives-Corrons JL, Rozman C, Montserrat E. Chronic myeloid leukemia of thrombocythemic onset: a CML subtype with distinct hematological and molecular features?. Leukemia 1996; 10:1241-1243.
12. Kurzrock R, Kantarjian HG, Shtalrid M, Gutterman JU, Talpaz M. Philadelphia chromosome-negative chronic myelogenous leukemia without breakpoint cluster region rearrangenment: a chronic myeloid leukemia with a distinct clinical course. Blood 1990; 75:445-452.
13. Chusid MJ, Dale DC, West BC, Wolf SM. The hypereosinophilic syndrome: Analysis of fourteen cases with review of the literature. Medicine (Baltimore) 1975; 54:1-27.
14. Cervantes F, López-Guillermo A, Bosch F, Terol MJ, Rozman C, Montserrat E. An assessment of the clinicohematological criteria for the accelerated phase of chronic myeloid leukemia. Eur J Haematol 1996; 57:286-291.
15. Cervantes F, Rozman M, Rosell J, Urbano-Ispizua A, Montserrat E, Rozman C. A study of prognostic factors in blast crisis of Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukaemia. Br J Haematol 1990; 76:27-32.
16. Hernández JM, González-Sarmiento R, Martín M, González M, Sánchez I, Corral J et al. Immunophenotypic, genomic and clinical characteristics of blast crisis of chronic myelogenous leukaemia. Br J Haematol 1991; 79:408-414.
17. Cervantes F, Ballesta F, Milá M, Rozman C. Cytogenetic studies in blast crisis of Ph-positive chronic granulocytic leukemia: results and prognostic evaluation in 52 patients. Cancer Genet Cytogenet 1986; 21:238-246.
18. Cervantes F, Villamor N, Esteve J, Montoto S, Rives S, Rozman C et al. «Lymphoid» blast crisis of chronic myeloid leukaemia is associated with distinct clinicohaematological features. Br J Haematol 1998; 100:123-128.
19. Minot GR, Buckman TE, Isaacs R. Chronic myelogenous leukemia: age incidence, duration and benefit derived from irradiation. JAMA 1924; 82:1489-1494.
20. Galton DAG. Myleran in chronic myeloid leukaemia. Results of treatment. Lancet 1953; i:208-213.
21. Hehlmann R, Heimpel H, Hassford J, Kolb HJ, Pralle H, Hossfeld D et al. Randomized comparison of busulfan and hydroxyurea in chronic myelogenous leukemia: prolongation of survival by hydroxyurea. Blood 1993; 82:398-407.
22. Talpaz M, Kantarjian HM, Kurzrock R, Gutterman JU. Interferon-alpha produces sustained cytogenetic responses in chronic myelogenous leukemia. Ann Intern Med 1991; 114:532-538.
23. The Italian Cooperative Study Group on Chronic Myeloid Leukemia. Interferon alpha-2a as compared with conventional chemotherapy for the treatment of chronic myeloid leukemia. N Engl J Med 1994; 330:820-825.
24. Guilhot F, Chastang C, Michallet M, Guerci A, Harousseau JL, Maloisel F et al. Interferon alfa-2b combined with cytarabine versus interferon alone in chronic myelogenous leukemia. N Engl J Med 1997; 337:223-229.
25. Sokal JE, Cox EB, Baccarani M, Tura S, Gomez GA, Robertson JE et al. Prognostic discrimination in «good-risk» chronic granulocytic leukemia. Blood 1984; 63:789-799.
26. Hasford J, Pfirrmann M, Hehlmann R, Allan NC, Baccarani M, Kluin-Nelemans JC et al. A new prognostic score for survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with interferon alfa. Writing Committee for the Collaborative CML Prognostic Factors Project Group. J Natl Cancer Inst 1998; 90:850-858.
27. Van Rhee F, Szydlo RM, Hermans J, Devergie A, Frassoni F, Arcese W et al. Long-term results after allogeneic bone marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia in chronic phase: a report from the Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Bone Marrow Transpl 1997; 20:553-560.
28. Speiser DE, Hermans J, Van Biezen A, Starobinski M, Jeannet M, Jacobsen N et al. Haploidentical family members transplants for patients with chronic myeloid leukemia: a report of the Chronic Leukaemia Working party of the European Group for Blood and

CAPÍTULO **18**

Funcionalismo leucocitario. Granulocitopatías funcionales. Anomalías constitucionales de los leucocitos

J. J. Ortega

ÍNDICE

Introducción al funcionalismo del neutrófilo
Sistema fagocitario
Mecanismos de la función fagocitaria del neutrófilo
Adherencia al endotelio
Quimiotaxis
Opsonización y reconocimiento
Endocitosis o ingestión
Degranulación
Activación del metabolismo oxidativo
Sistemas bactericidas del neutrófilo
Efectos de las citocinas hematopoyéticas sobre la función de los neutrófilos
Granulocitopatías funcionales
Clasificación
Diagnóstico biológico
Pruebas funcionales
Deficiencia de adhesión leucocitaria (DAL)
Granulocitopatías por alteración en la quimiotaxis
Defectos extrínsecos en la interacción entre los agentes quimiotácticos y los receptores
Defectos en los receptores de la membrana
Trastornos que cursan con alteraciones en los gránulos
Defectos en el citoesqueleto
Alteraciones transitorias de la quimiotaxis
Granulocitopatías por alteraciones en los gránulos o en el mecanismo de degranulación
Síndrome de Chediak-Higashi
Deficiencia en los gránulos específicos
Déficit de mieloperoxidasa
Granulocitopatías por deficiencia en los mecanismos metabólicos de activación oxidativa
Enfermedad granulomatosa crónica (EGC)
Defectos en la producción o regeneración de nicotinamida adenindinucleótido fosfato reducido (NADPH)
Tratamiento de las granulocitopatías funcionales
Anomalías constitucionales de los granulocitos
Anomalía de Pelger-Hüet
Anomalía de May-Hegglin
Anomalía de Alder-Reilly
Bibliografía

Los granulocitos neutrófilos desempeñan un papel básico en la defensa del organismo frente a una variedad de microbios patógenos, entre los que se incluyen bacterias, hongos y parásitos. Son los componentes más rápidos y activos del sistema fagocitario. Tanto las pérdidas cuantitativas (granulocitopenias) como las funcionales (granulocitopatías) dejan al organismo desprovisto de uno de los mecanismos básicos de defensa antiinfecciosa. Las alteraciones funcionales en los neutrófilos pueden ocasionar abscesos cutáneos recurrentes, periodontitis, neumonitis, osteomielitis y, en ocasiones, septicemia con riesgo de muerte.

INTRODUCCIÓN AL FUNCIONALISMO DEL NEUTRÓFILO

Sistema fagocitario

Los mecanismos primarios de que dispone el organismo para combatir a los agentes patógenos infecciosos (bacterias y hongos, primordialmente) están constituidos por el sistema y la función fagocitarios. Los estudios sobre la función fagocitaria se iniciaron en 1893 por el zoólogo ruso Metchnikoff, y en los últimos 30 años han recibido un gran impulso como consecuencia del conocimiento de que una serie de enfermedades caracterizadas por infecciones recurrentes obedecía a un mal funcionamiento del sistema fagocitario.

Los fagocitos son células de estirpe hematopoyética cuya principal función es aproximarse, ingerir y destruir los microorganismos patógenos. El conjunto de estos procesos se conoce como función fagocitaria. Existen dos grupos de fagocitos con una misión común, que es la que se describe aquí, pero que difieren en cuanto a la morfología, ciclo vital, distribución y otras funciones. El primer grupo está formado por los leucocitos polimorfonucleares y, fundamentalmente, por los granulocitos neutrófilos. El segundo, por los fagocitos mononucleares; éstos, a su vez, comprenden los monocitos circulantes y los macrófagos tisulares. Aquí, nos referiremos exclusivamente a los primeros.

Los granulocitos neutrófilos son los fagocitos más activos y con mayor grado de especialización. Al examinarlos con el microscopio electrónico, demuestran una forma redondeada, con proyecciones en la superficie en forma de microvellosidades o crestas (fig. 18.1). En el citoplasma destacan numerosos gránulos que tienen una gran importancia funcional. Existen dos tipos de gránulos: los primarios o azurófilos, producidos en la fase de promielocitos, y los secundarios o específicos, que aparecen con posterioridad. Los gránulos azurófilos contienen, principalmente, mieloperoxidasa, lisozima, hidrolasas ácidas, proteasas neutras, defensinas y proteínas bactericidas que aumentan la permeabilidad. Los gránulos secundarios contienen lactoferrina, citocromo-b_{558}, fosfatasa alcalina, lisozima, fosfolipasa A_2 y colagenasa, entre otros productos.

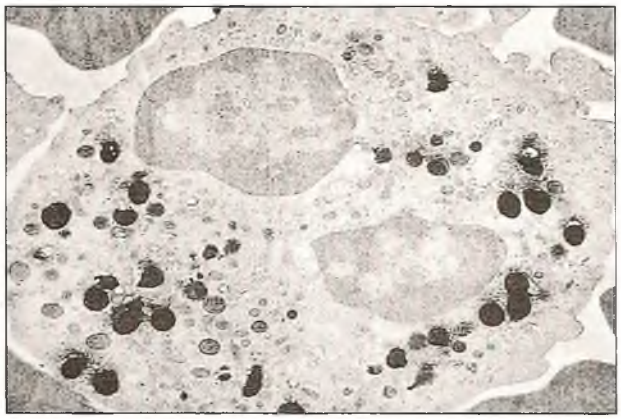


Figura 18.1. Imagen ultraestructural de un granulocito (tinción para peroxidasas). Se observan las proyecciones en la superficie, dos segmentos nucleares y, en el citoplasma, gránulos primarios (peroxidasa-positivos) y gránulos secundarios o específicos, más pequeños y menos contrastados (aumento original ×16.000). Cortesía Dr. E. Feliu.

Otras organelas citoplasmáticas de gran interés funcional son el sistema de microtúbulos y microfilamentos situados en la región perinuclear y que constituyen el citoesqueleto. En la periferia del citoplasma existe una retícula de filamentos de actina, susceptibles de polimerizarse por el efecto de una proteína fijadora de la actina. Este sistema actina-proteína fijadora, por la acción de las moléculas de miosina y con el concurso de adenosintrifosfato (ATP), constituye un mecanismo contráctil que ejerce un papel importante en los cambios de forma de la membrana celular y en el desplazamiento del granulocito; junto con el sistema de microtúbulos, constituyen elementos básicos en los procesos de motilidad celular.

La membrana plasmática, además de otras estructuras, contiene receptores para diversos productos, entre ellos para la región Fc de la inmunoglobulina G, para un fragmento del complemento (CR3), la fibronectina y la laminina.

El metabolismo intermediario de los granulocitos deriva de la glucólisis aerobia. La célula utiliza, sobre todo, la glucosa, que metaboliza, en gran parte, por la vía de Embden-Meyerhof. Durante la fagocitosis se estimula el metabolismo por la vía de los hexosamonofosfatos.

El granulocito neutrófilo está considerado como una célula final, producto de la multiplicación y maduración en la médula ósea de elementos precursores hematopoyéticos pluripotenciales. Los procesos de diferenciación y crecimiento tienen lugar en un microambiente medular apropiado y bajo la influencia de factores estimuladores de colonias hematopoyéticas entre los que se incluyen, la interleucina 3 (IL-3), el factor estimulador de colonias granulocíticas y monocíticas (GM-CSF) y el factor estimulador de colonias granulocíticas (G-CSF); este último es el más específico. Los dos últimos tienen, además de una función estimuladora sobre la división y maduración de las células inmaduras, una acción favorecedora sobre las principales funciones del granulocito maduro. El tiempo medio en alcanzar la madurez, a partir del mieloblasto, es de 6 a 10 días. En la fase de mielocito se produce la diferenciación de tres poblaciones de granulocitos: neutrófilos, eosinófilos y basófilos; el neutrófilo es el que alcanza mayor relevancia en la defensa contra los microorganismos patógenos[1-3]. La cantidad de neutrófilos circulantes es, aproximadamente, de $3{,}3 \times 10^8$ por kg de peso corporal, y cifras similares constituyen los llamados *pool* marginal y *pool* tisular. El tiempo de tránsito de los granulocitos por la circulación, desde que ingresan procedentes de la médula hasta que alcanzan los tejidos periféricos es muy corto (de 6 a 8 horas), por lo que la tasa de renovación por día debe ser muy elevada ($1{,}8 \times 10^9$ células por kg de peso corporal)[1]. Existe, además, una serie de factores que regulan la salida de los granulocitos de la médula ósea a la circulación, entre los que figuran factores del sistema del complemento. La salida de la circulación y la distribución a los tejidos se realiza en función de su capacidad de desplazamiento, y en respuesta a una serie de influencias humorales que proceden de los tejidos y fluidos orgánicos. Estas influencias pueden actuar aumentando la motilidad celular (quimiocinesis), polarizando la dirección de los movimientos (quimiotaxis) o inmovilizando los granulocitos en determinados lugares (atrapamiento). Junto a estos factores estimuladores quimiocinéticos y quimiotácticos existen otros que actúan como inhibidores. La presencia de microbios o productos microbianos en la piel y en las mucosas y el constante deterioro de las estructuras tisulares generan sustancias quimiotácticas que atraen a los leucocitos. La invasión por parte de microorganismos patógenos o la formación de focos de necrosis acelera este proceso. La salida de los leucocitos de la circulación tiene lugar cuando éstos se abren paso entre dos células endoteliales de los capilares. La acción de los factores quimiotácticos produce alteraciones morfológicas en la célula. Ésta adopta una forma asimétrica con formación en la parte anterior de uno o más seudópodos: el cuerpo celular se vuelve fusiforme, con el eje mayor en la dirección del movimiento y con una protuberancia estrecha posterior o cola; el núcleo se desplaza hacia atrás, mientras que los gránulos y las organelas se mantienen estacionarios (fig. 18.2). Los corticosteroides estimulan la salida de neutrófilos del *pool* de reserva en la circulación, aumentando el número de neutrófilos circulantes, pero inhiben el paso de la circulación a los tejidos.

Mecanismos de la función fagocitaria del neutrófilo

La función básica del granulocito neutrófilo está encaminada a la eliminación de una variedad de microbios patógenos para el organismo. Incluye diversos mecanismos: *adherencia*

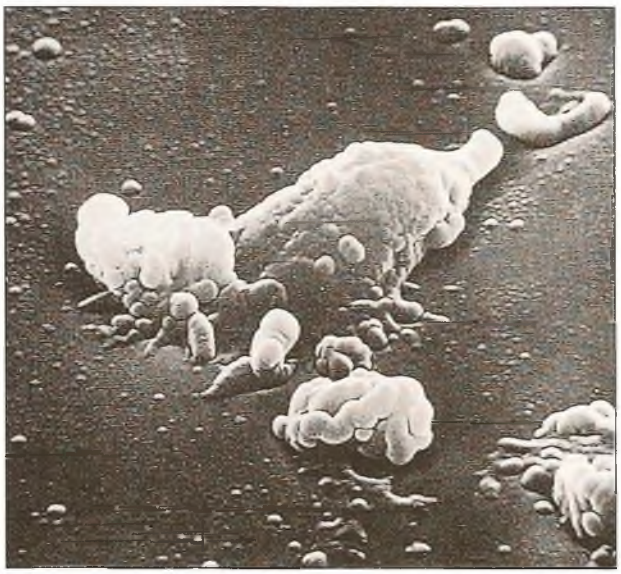


Figura 18.2. Granulocito en movimiento inducido por un estímulo quimiotáctico. Pueden observarse, a la izquierda, las proyecciones en dirección al objetivo y una cola posterior. Estudio de la quimiotaxis en soporte de agarosa y examen al microscopio electrónico de barrido (MEB) (aumento original ×5.000). Cortesía Dr. E. Feliu.

al endotelio y salida de la circulación, desplazamiento al lugar de infección o *quimiotaxis*, *reconocimiento de partículas* o microorganismos previamente opsonizados, fenómenos simultáneos de ingestión o *endocitosis* con formación de un fagosoma, *estimulación del metabolismo oxidativo y degranulación*, y finalmente, la *acción de los sistemas microbicidas* (fig. 18.3)[1-4].

Los neutrófilos responden a una variedad de estímulos que actúan sobre los receptores de la membrana, que transmiten la señal mediante mecanismos complejos. Los estímulos provienen de mediadores inflamatorios solubles (citocinas, péptidos, endotoxinas) segregadas por células endoteliales, leucocitos o por microbios invasores.

Adherencia al endotelio

La *adherencia al endotelio* tiene lugar en dos fases. Primero, se produce una adherencia transitoria de los neutrófilos a las células endoteliales mediada por moléculas de adhesión de la familia de las *selectinas* (tabla 18.1); a continuación, se produce la activación de una segunda familia de moléculas, las *β_2 integrinas*, que es más sostenida y facilita la migración de los neutrófilos a través del endotelio[5]. Las β_2 integrinas comprenden tres moléculas de adhesión: LFA-1, CR3 o Mac-1 y p150,95 (tabla 18.1), que actúan como receptores; son glucoproteínas de la membrana que comparten una cadena β común (β_2, CD18) y tienen una cadena β específica para cada una. Se unen a ligandos de las células endoteliales de la familia ICAM, al factor de complemento C3bi, fibrinógeno y productos bacterianos. La deficiencia de adhesión leucocitaria se debe a la ausencia de expresión de β_2 integrinas[5].

Quimiotaxis

La *quimiotaxis* es el desplazamiento orientado en dirección al foco de producción de *sustancias quimiotácticas*. Algunas de éstas son de *origen exógeno*: endotoxinas bacterianas, complejos antígeno-anticuerpo, caseína, exudados bacterianos y polipéptidos sintéticos. Otros agentes quimiotácticos son *endógenos*; entre ellos, destacan los derivados activos del *complemento sérico C5a C3a*, el complejo C567, C3 convertasa, productos de la *degradación de la fibrina* (fibrinopéptido B), interleucina 8, los fosfolípidos PAF y LTB_4, y la familia de las integrinas[3].

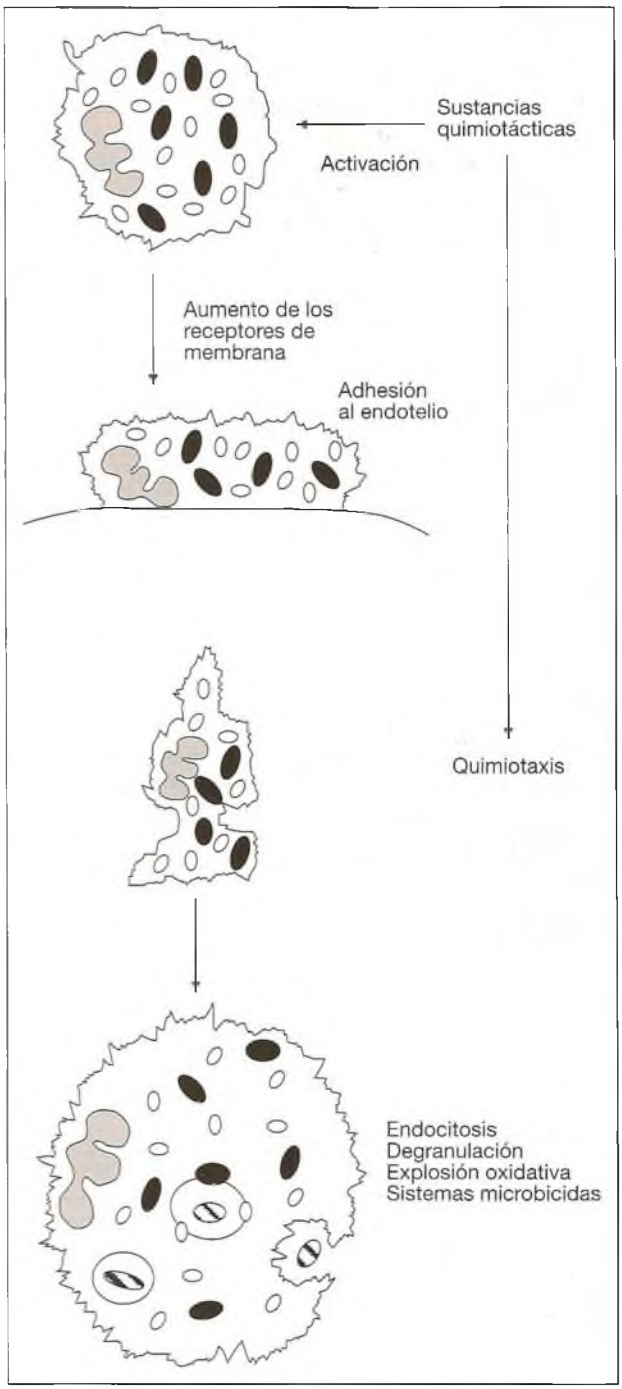


Figura 18.3. Esquema de la sucesión de respuestas del granulocito a la infección bacteriana.

Si bien el mecanismo último de la quimiotaxis no se conoce bien, en una primera fase se produce la interacción entre los agentes quimiotácticos y los receptores de la membrana del neutrófilo. Esa interacción da lugar a cambios en las concentraciones iónicas, con aumento del Ca^{++} intracelular, y

TABLA 18.1

Moléculas de adhesión leucocitaria

Nombre	Distribución	Ligandos
Selectinas		
Selectina E (CD62E)	Endotelio	Hidratos de carbono leucocitarios sialicados y fucosilados; glucoproteínas leucocitarias sialicadas y fucosiladas; moléculas endoteliales sialicadas, fucosiladas y sulfatadas
Selectina P (CD62P)	Endotelio, plaquetas	
Selectina L (CD26L o LAM-1)	Monocitos, neutrófilos, eosinófilos, linfocitos	
β_2 integrinas		
LFA-1 (CD11a/CD18) $\alpha_L \beta_2$	Todos los leucocitos	ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3
CR_3 (CD11b/CD18) $\alpha_m\beta_2$, Mac-1	Neutrófilos, monomacrófagos Células NK, linfocitos T citotóxicos	C3bi, fibrinógeno, factor X
p150,95 (CD11c/CD18) $\alpha_x \beta_2$	Neutrófilos, monomacrófagos, linfocitos B activados	C3bi, fibrinógeno

transformaciones en el citoesqueleto, que producen las alteraciones en la morfología celular antes reseñada y facilitan así la adherencia al endotelio y la migración extracirculatoria. La polimerización de la actina da lugar a una transformación en microfilamentos que le confiere una actividad contráctil, lo cual, junto con la estructura de los microtúbulos, permite los cambios de forma y la movilidad de la célula y de los gránulos en su interior[6].

Opsonización y reconocimiento

Para que las partículas o microorganismos sean reconocidos por los fagocitos es preciso que estén recubiertos de algunas proteínas séricas denominadas *opsoninas*. El proceso de recubrimiento se denomina opsonización. Existen *dos tipos de opsoninas*: unas, termostables, que son anticuerpos del *tipo IgG* que se unen a los gérmenes por medio de su fragmento F (ab), con lo cual queda libre la fracción Fc para unirse a los receptores de los granulocitos; las otras son termolábiles y corresponden a un *fragmento del factor de complemento C3, el C3b*, que se produce por activación del complemento por la vía clásica o por la vía alternativa. Unos microorganismos requieren un tipo de opsonización y otros prefieren el otro. El reconocimiento por parte del fagocito se efectúa merced a receptores de membrana por las opsoninas. La activación de estos receptores pone en marcha una serie de mecanismos efectores entre los que se incluyen el aumento de adhesividad de la membrana del fagocito y la extensión de seudópodos, que tienden a envolver al microorganismo y a formar la vacuola fagocítica (fig. 18.4).

Endocitosis o ingestión

Una vez formados los seudópodos, éstos rodean al microorganismo, al que se adhieren estrechamente, sus extremos se funden y queda formada una vacuola fagocítica o fagosoma. En este proceso (como en la motilidad celular orientada) desempeñan un papel importante las moléculas de adhesión leucocitarias (selectinas y betaintegrinas), así como la interacción de las proteínas contráctiles: actina, proteína fijadora de la actina y miosina[4]. Durante la endocitosis, una porción de la membrana plasmática pasa a formar parte del fagosoma. Este proceso requiere energía en forma de ATP. Los nucleótidos cíclicos, AMPc (adenosinmonofosfato cíclico) y el GMPc (guanosinmonofosfato cíclico), ejercen un papel modulador; de igual modo que en la quimiotaxis, el primero estimula y el segundo inhibe.

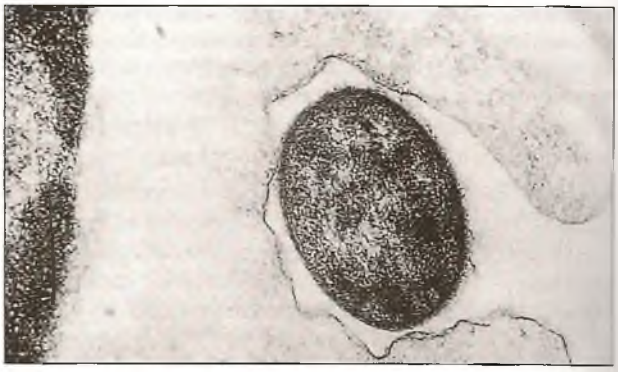


Figura 18.4. Los seudópodos de un granulocito a punto de fusionarse, en torno a una *Klebsiella* para formar una vacuola fagocítica (aumento original ×7.000). Cortesía Dr. E. Feliu.

Degranulación

Al tiempo que se forma el fagosoma, los gránulos citoplasmáticos, primero los específicos y luego los primarios, se desplazan en dirección a la vacuola hasta que convergen en ella y, posteriormente, se funden y descargan su contenido en el interior. Este proceso se conoce con el nombre de degranulación. Parte de los gránulos también puede verter su contenido en el espacio extracelular. El contenido de los gránulos primarios, formado por mieloperoxidasa, proteínas catiónicas e hidrolasas ácidas, potencia las actividades digestivas y microbicidas de los fagocitos. La secreción de los gránulos secundarios y vesículas secretoras, formada por lisozima, colagenasa, lactoferrina, componentes de la NADH oxidasa y las proteínas de adhesión CD11b/CD18, ayuda a regular la inflamación. En el proceso de degranulación intervienen, fundamentalmente, el sistema de microtúbulos, el metabolismo energético y la acción reguladora de los nucleótidos cíclicos.

Activación del metabolismo oxidativo

La activación de la membrana del fagocito por las bacterias opsonizadas o por otros productos, como partículas de látex, complejos antígeno-anticuerpo o compuestos solubles

desencadena una serie de mecanismos que conducen a la destrucción del agente. El más importante es la activación del metabolismo del oxígeno. A los pocos segundos del contacto con el microorganismo opsonizado se produce un tremendo aumento del consumo de oxígeno, más de 100 veces superior al previo a la estimulación. Este brusco incremento de consumo de oxígeno da lugar a la producción de una serie de formas reducidas de oxígeno molecular: anión superóxido (O^-_2), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidroxilo OH^- y oxígeno singlete ($^1O_2$) (fig. 18.5). Éstas son formas con actividad bactericida *per se* y de todas ellas sólo el H_2O_2 es estable. Paralelamente a esta activación del metabolismo oxidativo, que ha sido llamada «explosión oxidativa», se comprueba un aumento de la glucólisis mediante el cortocircuito hexosamonofosfato y un incremento de actividad del metabolismo del glutatión. El consumo de oxígeno es, por tanto, necesario para que se den las condiciones óptimas para la destrucción de los patógenos bacterianos y fúngicos más comunes. A su vez, para que el consumo de oxígeno molecular dé lugar a formas de oxígeno activas en los sistemas microbicidas, se precisa de una serie de reacciones de transferencia de electrones en estado de alta energía, que se inicia con la incorporación de estos electrones desde la nicotinamida adenindinucleótido fosfato reducido (NADPH), procedente del metabolismo de la glucosa hacia el oxígeno molecular mediante un sistema NADPH-oxidasa[7], dando lugar a la producción de anión superóxido (O^-_2) y $NADP^+$. Este último incrementa el metabolismo de la glucosa mediante el cortocircuito hexosamonofosfato y regenera NADPH (fig. 18.5).

Por la acción de la superoxidodismutasa, dos moléculas de O_2 en presencia de dos moléculas de H_2 dan lugar a la producción de H_2O_2 y OH^-. La mieloperoxidasa procedente de los gránulos primarios produce la interacción de H_2O_2 con radicales Cl^- y da lugar a iones hipoclorito OCl^-. Todos estos productos intermedios de la explosión respiratoria oxidativa, además de poseer una intensa acción bactericida, pueden causar lesiones a las células[8]. Por eso, existen mecanismos protectores en los mismos granulocitos: la catalasa actúa sobre el H_2O_2 y forma H_2O y O_2. El glutatión también interactúa con el H_2O_2 para formar agua y glutatión oxidado[1-4]. La activación del sistema NADPH-oxidasa requiere la integridad de componentes de la membrana y, fundamentalmente, una flavoproteína, que captaría los electrones del NADPH y un citocromo b que los recibiría de la flavina reducida para, a su vez, reducir el oxígeno molecular. El citocromo b está formado por dos subunidades cuya presencia conjunta es necesaria. Actualmente, se sabe que el sistema NADPH-fagocitooxidasa (PHOX) tiene realmente cinco componentes: dos de ellos, la $p22^{PHOX}$ y la $gp91^{PHOX}$, están localizados en los gránulos específicos, y en las membranas de las vesículas secretoras (la asociación de ambas forma el citocromo b_{558} y los otros tres) las $p47^{PHOX}$, $p67^{PHOX}$ y la $p40^{PHOX}$ están situadas en forma de complejo en el citosol. Al inicio del proceso de fagocitosis se fosforiliza el complejo del citosol y emigra a la membrana donde se une al citocromo b_{558}, dando lugar a la forma activa de la oxidasa, que es capaz de transferir electrones desde un sustrato al oxígeno molecular. Todos estos complejos procesos han sido recientemente revisados[7,8].

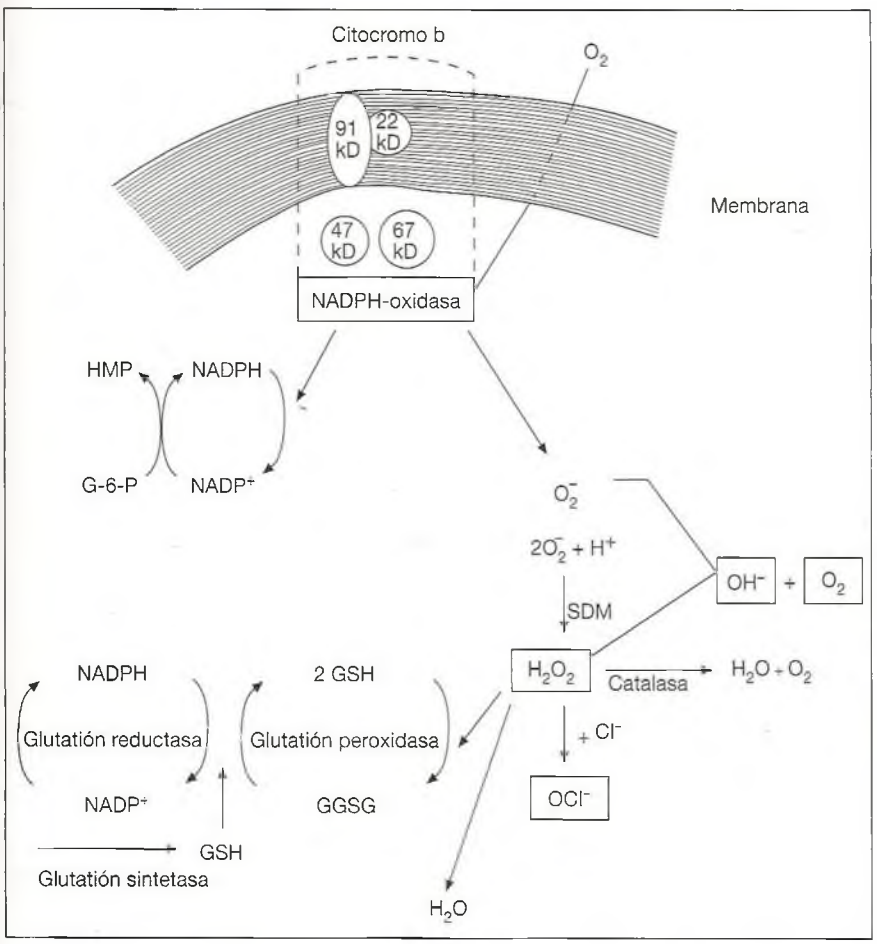


Figura 18.5. Explosión oxidativa en los neutrófilos durante la fagocitosis. Secuencia de reacciones. HMP: vía de los hexosamonofosfatos; G-6-P: glucosa-6-fosfato; SDM: superoxidodismutasa; GSH: glutatión reducido; GGSG: glutatión oxidado.

Sistemas bactericidas del neutrófilo

Los sistemas bactericidas más potentes son los oxígeno-dependientes. El H_2O_2, así como las otras formas activadas de oxígeno (O_2^-, OH^- y $^1O_2$), tienen, *per se*, una acción bactericida, pero ésta resulta muy potenciada en presencia de la mieloperoxidasa que contienen los gránulos primarios y el halógeno cloro, lo cual da lugar a la formación de hipocloritos y cloraminas, que son fuertemente bactericidas. La integridad del sistema H_2O_2-mieloperoxidasa-halógeno precisa de una función normal de factores ubicados en la membrana, citoplasma y granulaciones; su acción bactericida, fungicida y viricida es muy importante[8,9].

Existen, además, otros sistemas oxígeno-independientes, que funcionan paralelamente a los anteriores y que se ponen en marcha en el fagosoma tras la degradación y liberación de productos tóxicos. Entre los componentes granulares con capacidad bactericida cabe señalar hidrolasas, que incluyen la lisozima, proteasas ácidas y neutras, glucosidasas, polisacaridasas, sulfatasas y lactoferrina. Entre las proteasas activas con pH neutro destacan la catepsina G, la elastasa, la azurocidina, las proteínas catiónicas (CAP57 y CAP37) y las defensinas[10].

Efectos de las citocinas hematopoyéticas sobre la función de los neutrófilos

Además de los efectos conocidos de los factores estimuladores del crecimiento hematopoyético activando la proliferación y maduración de los precursores de los neutrófilos en la médula ósea, varios de estos factores ejercen influencia en los neutrófilos maduros modulando sus funciones. La influencia puede ser directa o indirecta, primando la respuesta celular a distintos estímulos.

El GM-CSF incrementa el número y afinidad de los receptores del neutrófilo para los péptidos bacterianos quimiotácticos favoreciendo la quimiotaxis, disminuye la motilidad al azar del neutrófilo, favorece los mecanismos de endocitosis, prima el metabolismo oxidativo y aumenta la degranulación[11].

El G-CSF también aumenta los procesos de adherencia, quimiotaxis, la expresión de receptores C3bi y la producción de O^-_2[11].

In vitro, diversas citocinas (G-CSF, GM-CSF, IL-6 e interferón-γ) reducen la apoptosis aumentando la supervivencia de los neutrófilos maduros[12].

La IL-8 también es un potente estimulador de los neutrófilos que induce la exposición de moléculas de adhesión y prima la explosión oxidativa y la degranulación[11].

GRANULOCITOPATÍAS FUNCIONALES

La clínica de todas las alteraciones funcionales de los neutrófilos es similar, sea cual fuere la patogenia y el tipo de trastorno. Puede resumirse diciendo que los individuos afectados padecen infecciones bacterianas o micóticas frecuentes, de evolución tórpida y con pobre respuesta a la terapéutica con antibióticos. El curso clínico varía considerablemente, desde algunos casos de *enfermedad granulomatosa crónica* de extraordinaria gravedad hasta casos con manifestaciones clínicas de escasa relevancia.

Clasificación

En relación con la etiología, en unos casos se trata de *enfermedades hereditarias*, en otros las granulocitopenias son *secundarias a otros estados patológicos*, como la malnutrición o la diabetes, o a *causas extrínsecas*, como la acción de determinados fármacos. Algunas veces se trata de *disfunciones transitorias* ligadas a circunstancias vitales, como ocurre en el período neonatal. Finalmente, existen situaciones en que no se ha demostrado un mecanismo hereditario ni llega a conocerse una causa determinada, y deben catalogarse provisionalmente como enfermedades idiopáticas. Desde el punto de vista fisiopatológico, las granulocitopenias funcionales pueden clasificarse en *alteraciones en la adherencia, defectos en la quimiotaxis, alteraciones en la ingestión o endocitosis, anomalías en el proceso de degranulación* y *alteraciones en la actividad microbicida* (tabla 18.2). Debe tenerse en cuenta, desde un punto de vista diagnóstico, que un grupo de disfunciones de granulocitos, tanto congénitas como adquiridas, se deben a causas extracelulares, es decir, a deficiencias en factores séricos necesarios para que tengan lugar diversas funciones del granulocito. Así, a veces, es necesaria la presencia de factores del complemento e inmunoglobulinas; otras veces, la acción de inhibidores séricos de la quimiotaxis o de la opsonización puede interferir con una función granulocitaria correcta. Aquí se tratará, exclusivamente, de los trastornos funcionales que radican en el propio granulocito.

TABLA 18.2

Clasificación de las alteraciones funcionales de los granulocitos

Defectos de adherencia leucocitaria
Defectos congénitos en el complejo CD11/CD18
Alteraciones en la quimiotaxis
Defectos extragranulocitarios:
– Déficit de C5a, C1r, C2, C3, C4
– Enfermedad de Leiner (disfunción de C5)
– Factores séricos inactivadores
– Síndrome de hiper-IgE (síndrome de Job)
Defectos en receptores de la membrana (complejo CD11/CD18)
Alteraciones en los gránulos
Defectos en el citoesqueleto
– Síndrome de disfunción de actina
– Síndrome del leucocito perezoso
Alteraciones transitorias de la quimiotaxis
– Período neonatal
– Malnutrición proteicocalórica
Alteraciones en los gránulos o en el mecanismo de degranulación
Síndrome de Chediak-Higashi
Deficiencia en gránulos específicos
Déficit de mieloperoxidasa
Defectos en la activación oxidativa
Enfermedad granulomatosa crónica
Defectos en la producción o regeneración de NADPH
– Deficiencia en glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa
– Deficiencias en glutatión-reductasa y glutatión-sintetasa

Diagnóstico biológico

Cuando las manifestaciones clínicas hagan sospechar que el paciente está afectado de una alteración funcional granulocitaria, la primera fase del diagnóstico consiste en descartar

una alteración cuantitativa (granulocitopenia) y una deficiencia inmunitaria de los linfocitos B, T o del sistema del complemento (fig. 18.6).

Pruebas funcionales

El estudio de una posible alteración funcional del granulocito puede iniciarse mediante una prueba de actividad bactericida global, otra para medir la quimiotaxis y otra para comprobar la activación del metabolismo oxidativo durante la fagocitosis. El examen mediante microscopia óptica de la morfología del granulocito sirve para detectar alteraciones en el núcleo o en los gránulos; con técnicas citoquímicas puede demostrarse, además, la existencia de actividad de la mieloperoxidasa, la fosfatasa alcalina y las esterasas.

La *prueba de actividad bactericida* de los granulocitos se basa en la técnica descrita por Quie et al en 1967, y sirve para medir la actividad opsónica del suero del paciente, la endocitosis y el funcionamiento de los sistemas bactericidas[13]. Los leucocitos de sangre periférica se aíslan, se lavan, se cuentan y se suspenden en una concentración conocida en un medio que contenga suero normal (fuente de opsoninas) y bacterias (generalmente, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*) u hongos (*Candida albicans*), recogidos de cultivos recientes y en número similar al de los granulocitos. Se incuban con agitación continua a 37 °C durante 2 horas, y van extrayéndose a los 0, 30, 60 y 120 minutos muestras alícuotas de la suspensión leucobacteriana para determinar en cada una de ellas el número de bacterias viables tanto en el sobrenadante (bacterias libres) como en el agregado celular del fondo. Los leucocitos de un individuo normal fagocitan y destruyen el 95% de las bacterias a los 120 minutos, mientras que los de un paciente con enfermedad granulomatosa crónica destruyen menos del 10% y, además, se hallan bacterias viables en el interior de los leucocitos, que indican que la ingesta bacteriana se ha producido. En las alteraciones de la endocitosis, la mayoría de bacterias se encuentra en el sobrenadante. Si se incuba suero del paciente con leucocitos normales, puede detectarse un fallo en la actividad opsónica con esta misma técnica. Asimismo, si se aplican métodos histoquímicos y autorradiográficos pueden obtenerse estimaciones semicuantitativas de la actividad microbicida en las células individuales[14].

La quimiotaxis puede estudiarse *in vivo*, de manera simple, con la *técnica de la ventana de Rebuck*[15]. Se practica una escarificación superficial en la piel en un área de unos 4 mm sobre la que van colocándose y retirándose a intervalos de 30 a 60 minutos del cubreobjetos. Mediante las tinciones habituales se comprueba que, normalmente, se produce una migración inicial de granulocitos en el curso de las cuatro primeras horas, seguida por la de las células mononucleares en las 12 horas siguientes. Existen dos métodos para la exploración *in vitro* de la quimiotaxis: la *técnica de la cámara de Boyden* y la de *soporte en gel de agarosa*. En la primera, los granulocitos se colocan en la parte superior de una cápsula de plástico, separados de la parte inferior, que contiene sustancias quimiotácticas, por un filtro Millipore. Mediante examen microscópico de la cara inferior del filtro o por método isotópico se comprueba la migración de los granulocitos por el filtro[16]. En la *técnica en gel de agarosa* se mide la migración de los granulocitos colocados en un pocillo en dirección a otro en que se han depositado agentes quimiotácticos, que suelen ser suero con endotoxina, zimosán o complejos antígeno-anticuerpo[17].

La activación metabólica inducida por la fagocitosis en los granulocitos puede medirse, inicialmente, por la *técnica histoquímica de reducción del colorante NBT (nitro-blue-tetrazolium)*. Este colorante, en forma oxidada, es incoloro, pero cuando se reduce en presencia de los productos activos del oxígeno, precipita y da lugar a formazán, de color azul. La técnica más simple[18] es la valoración histoquímica al microscopio óptico sobre portaobjetos del porcentaje de granulocitos que contienen gránulos de formazán tras incubación con NBT. En las personas sanas, la proporción de granulocitos NBT-positivos es superior al 10%. En otra modalidad

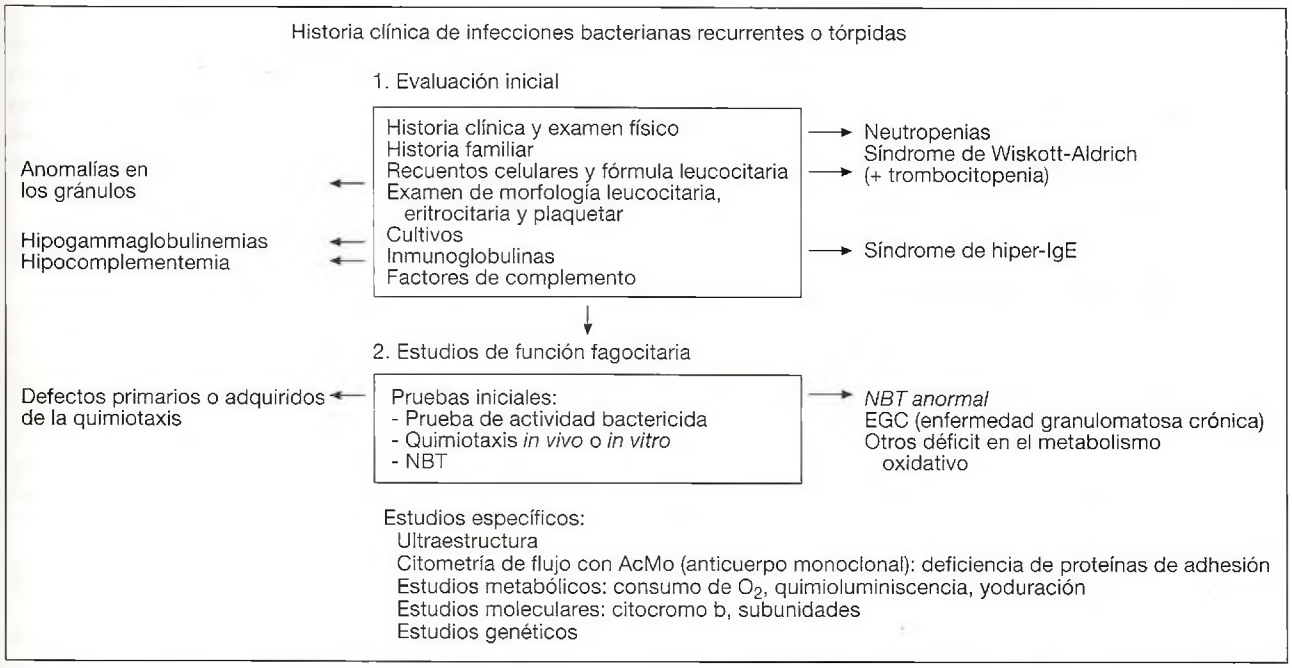


Figura 18.6. Orientación diagnóstica de una alteración de la función del granulocito.

de la prueba, los leucocitos suspendidos en plasma autólogo se incuban con partículas de látex y NBT; el resultado normal se refleja en la aparición de gránulos de color azul púrpura en los granulocitos que han fagocitado las partículas (figura 18.7) y un cambio de color en el sobrenadante de amarillo a gris o púrpura. Un hallazgo anormal es la ausencia de cambios de coloración después de 25 minutos de incubación[19]. Esta misma prueba admite una valoración cuantitativa con espectrofotómetro después de extraer el NBT reducido con piridina y examinar las diferencias en densidad óptica. Existen otras variantes de la técnica.

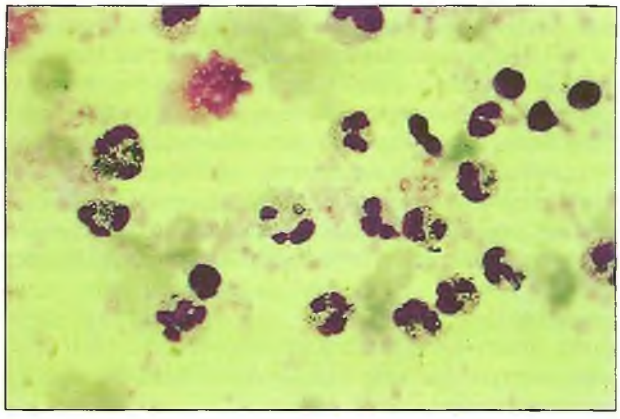


Figura 18.7. Reducción del NBT por los granulocitos normales tras la ingestión de partículas de látex. Los granulocitos de los pacientes con enfermedad granulomatosa crónica ingieren las partículas, pero no reducen el colorante.

Recientemente, se ha descrito un método para determinar la actividad de la oxidasa del neutrófilo utilizando la dihidro-rhodamina-123 (DHR) como indicador[20]. La DHR se hace fluorescente cuando se oxida por las formas de oxígeno reactivo. La fluorescencia se mide por citometría de flujo. Se ha señalado que esta prueba es más sensible que la del NBT, es sencilla y requiere sólo 0,2 mL de sangre total[21]. Las pruebas mencionadas pueden realizarse en un hospital general.

Una vez detectada una alteración en una o varias de las funciones del granulocito, debe estudiarse en cuál de las etapas o fases metabólicas radica la disfunción y, posteriormente, si es posible, hallar el sustrato molecular y la mutación genética. Por lo general, estas pruebas deben realizarse en laboratorios especializados. Nos referiremos a éstas al hablar de la distintas granulocitopatías.

Deficiencia de adhesión leucocitaria (DAL)

Es una rara enfermedad hereditaria autosómica recesiva caracterizada por retraso en la caída del cordón umbilical en el período neonatal, infecciones recurrentes necróticas de los tejidos blandos, periodontitis, cicatrización deficiente de las heridas y leucocitosis persistente. Se debe a la ausencia de las glucoproteínas de adhesión que forman el llamado complejo CD11/CD18[5,22]. Estas glucoproteínas están formadas por dos subunidades: alfa y beta. La subunidad alfa es igual para todas las glucoproteínas, mientras que la subunidad beta es inmunológicamente distinta y reconocible por anticuerpos monoclonales distintos. La glucoproteína CD11/CD18, llamada también LFA-1 (*leukocyte function antigen-1*) está presente, además de en los granulocitos, en los monocitos y en todos los linfocitos (tabla 18.1). El complejo C11b/CD18, también denominado Mac-1 o receptor de la fracción del complemento C3bi (CR3), se encuentra en neutrófilos, monocitos y macrófagos. Finalmente, el complejo CD11c/CD18 o CR4 se halla en granulocitos y en macrófagos, y tiene funciones relacionadas con la adhesividad, similares al anterior. El defecto en la DAL afecta a los tres miembros de la subfamilia de las β_2 integrinas. En general, los pacientes con deficiencia en el complejo CD11/CD18 muestran una alteración de las funciones relacionadas con la adhesividad que incluyen la adhesión a las células endoteliales y superficies recubiertas con una serie de proteínas como fibrinógeno, fibronectina e inmunocomplejos. La quimiotaxis y la endocitosis de partículas opsonizadas también es deficiente, incluso en presencia de estímulos como citocinas, péptidos y ésteres de forbol. La degranulación y la activación del metabolismo oxidativo también está afectada. Sin embargo, estas últimas respuestas son normales en presencia de estímulos solubles, como el acetato de forbol-miristato[22,23].

El curso clínico es variable. En los casos graves, las glucoproteínas de adherencia son indetectables, y los pacientes fallecen, generalmente, en el curso de los tres primeros años de vida a causa de infecciones invasivas. En las formas moderadas se detecta entre el 2,5 y el 8% de las glucoproteínas deficientes, y los pacientes sufren infecciones necróticas recurrentes, mala cicatrización de las heridas, periodontitis generalizada, otitis media y neumonía[4,5]. Los gérmenes causantes más frecuentes son *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* o *Pseudomonas,* entre las bacterias, y *Candida* y *Aspergillus* entre los hongos. La leucocitosis con neutrofilia puede llegar a ser prominente (entre 20 y 100 $\times$ 10^9/L).

Dado que la herencia es autosómica recesiva, los heterocigotos tienen concentraciones de glucoproteínas granulocitarias próximas al 50% y es posible, por tanto, diagnosticar cuáles son los portadores heterocigotos.

El diagnóstico de presunción puede llevarse a cabo tras hallar unas respuestas deficientes en la pruebas de quimiotaxis, ingestión de partículas opsonizadas y estimulación oxidativa. La prueba de NBT es normal cuando el estímulo es soluble. El diagnóstico definitivo consiste en la demostración de la expresión deficitaria de las glucoproteínas correspondientes (LFA-1, Mac-1 y CR4) en la superficie de granulocitos, monocitos o linfocitos, mediante el empleo de anticuerpos monoclonales y citometría de flujo con inmunofluorescencia. El diagnóstico prenatal es factible por este método.

Granulocitopatías por alteración en la quimiotaxis

Los pacientes con alteraciones en la quimiotaxis presentan como principales manifestaciones clínicas abscesos cutáneos recurrentes, candidiasis mucocutánea, neumonía y otitis media. Pueden diagnosticarse mediante la prueba de la ventana cutánea de Rebuck o las técnicas de quimiotaxis *in vitro*. Las alteraciones en la quimiotaxis de los granulocitos pueden radicar en distintos niveles (tabla 18.2).

Defectos extrínsecos en la interacción entre los agentes quimiotácticos y los receptores

De origen extragranulocitario, cabe citar, en primer lugar, los defectos en la producción de C5a como consecuencia de deficiencias familiares en C5 o C3. También se describen

deficiencias secundarias en C5c en el lupus eritematoso, la glomerulonefritis y en pacientes sometidos a diálisis. En la *enfermedad de Leiner*, caracterizada por dermatitis seborreica, diarrea crónica, infecciones bacterianas recurrentes por gérmenes gramnegativos y retraso en el desarrollo, se halla una disfunción de C5 asociada con un defecto en la quimiotaxis. La presencia de *factores séricos inactivadores de la quimiotaxis* se ha descrito en la cirrosis, sarcoidosis y lepra. Entre los factores que interfieren negativamente con la quimiotaxis figuran complejos inmunes, paraproteína IgA, los esteroides y el etanol.

El síndrome de *hiperinmunoglobulina E* (hiper-IgE), asociado con alteración de la quimiotaxis e infecciones recurrentes, se ha descrito en unos 50 pacientes que presentan abscesos estafilocócicos recurrentes en la piel, el tejido subcutáneo y el pulmón. Los abscesos pulmonares pueden revestir especial gravedad, con tendencia a desarrollar neumatoceles. El inicio de las manifestaciones puede producirse en los primeros meses de vida. El germen habitual es *Staphylococcus aureus*. Parte de estos pacientes presenta dermatitis atópica y otras manifestaciones alérgicas. Las concentraciones séricas de IgE están muy elevadas, y a menudo son superiores a 2.000 UI/ml, y existe eosinofilia. El defecto en la quimiotaxis de los granulocitos se ha asociado con una alteración en la producción de interferón gamma (IFN-γ) y FNT por los linfocitos T y con un aumento en las concentraciones de monofosfato de adenosina cíclica (AMPc), que es un inhibidor de la respuesta quimiotáctica inducido por la liberación de histamina. El defecto molecular es desconocido[24].

Un caso particular de síndrome de hiper-IgE lo constituye el llamado *síndrome de Job*, descrito por Davis et al en 1966 en pacientes con fenotipo particular: niñas o adolescentes pelirrojas que presentaban eccema y abscesos en la piel, el tejido subcutáneo y en los ganglios linfáticos, con escasos signos inflamatorios locales[2,3].

Se ha sugerido el empleo de IFN-γ en el tratamiento de estos pacientes, basándose en que esta citocina puede suprimir la síntesis de IgE.

Defectos en los receptores de la membrana

En la mencionada enfermedad por deficiencia en las glucoproteínas de adherencia, la incapacidad de los neutrófilos para adherirse al endotelio y a los tejidos intersticiales se traduce en un alteración en la migración a las áreas de inflamación.

Trastornos que cursan con alteraciones en los gránulos

En el síndrome de Chediak-Higashi y la deficiencia de gránulos específicos, existen alteraciones en la quimiotaxis producidas por disfunciones y disregulaciones en la membrana. Serán descritas posteriormente. En diversas enfermedades metabólicas de depósito, como en la manosidosis y en las glucogenosis, la acumulación de metabolitos puede dar lugar a alteraciones en la quimiotaxis y endocitosis con traducción en la aparición de infecciones recurrentes.

Defectos en el citoesqueleto

El *síndrome de disfunción de la actina* fue descrito por Boxer en 1974 en un lactante de 7 meses afectado de infecciones recurrentes con defecto de la quimiotaxis y endocitosis. Es una enfermedad de rara presentación[6,25]. Otros síndromes de disfunción de actina se han descrito posteriormente asociados a una deficiencia de una proteína de 89 kDa[3].

Con el nombre de *síndrome del leucocito perezoso*, Miller describió en 1971 en dos niños un síndrome caracterizado por neutropenia, alteración en la motilidad leucocitaria e infecciones recurrentes (gingivoestomatitis e infecciones respiratorias)[26]. Una disfunción en las proteínas de los microtúbulos sería la causa de la alteración en la locomoción de los granulocitos, si bien no ha sido estudiado el defecto molecular.

Alteraciones transitorias de la quimiotaxis

Los granulocitos del recién nacido tienen una respuesta quimiotáctica defectuosa, probablemente relacionada con una disminución de la deformabilidad de la membrana. La base podría residir en una anomalía en la unión de los microtúbulos[27].

También se han descrito alteraciones transitorias en la respuesta quimiotáctica en niños afectados de malnutrición proteinocalórica, en pacientes afectados de infecciones graves, en niños afectados de sarampión y en pacientes con rinitis alérgica y furunculosis estafilocócicas graves[28].

Granulocitopatías por alteraciones en los gránulos o en el mecanismo de degranulación

Síndrome de Chediak-Higashi

Es una enfermedad autosómica recesiva caracterizada por albinismo oculocutáneo parcial, con fotofobia, infecciones piógenas recurrentes, neuropatía craneal y periférica y la presencia de gránulos citoplasmáticos anormalmente grandes en los neutrófilos (fig. 18.8a) y en otras células, como en los megacariocitos y las plaquetas, en algunos linfocitos y en diversas células no mieloides. El defecto fundamental radica en la morfogénesis de los gránulos en las primeras fases de la mielopoyesis. Gránulos primarios de tamaño normal confluyen entre ellos y, posteriormente, con gránulos específicos, formando grandes lisosomas (fig. 18.8b). Un gen regulador denominado *CYST* aparece mutado en esta enfermedad. Los pacientes que sobreviven a los primeros años de vida desarrollan una fase acelerada caracterizada por hepatoesplenomegalia, linfadenopatías, disfunción hepática y fiebre elevada. El aspecto anatomopatológico característico es de una infiltración linfohistiocitaria difusa en hígado, bazo, ganglios linfáticos y médula ósea; los histiocitos a menudo demuestran fenómenos de hemofagocitosis. Esta fase conduce a la muerte en un plazo relativamente corto.

La neutropenia es frecuente, y puede deberse a una mielopoyesis ineficaz con destrucción intramedular; esto se refleja en un notable aumento en las concentraciones de muramidasa. Los granulocitos tienen diversas alteraciones funcionales[29]. En primer lugar, las anomalías en el citoesqueleto dan lugar a una fusión anómala de los gránulos y anomalías en los desplazamientos de las células. Durante la fagocitosis no se produce la degranulación de los gránulos gigantes. Éstos son deficientes en proteasas neutras, que incluyen la catepsina G y la elastasa[4,10]. Esta deficiencia podría ser determinante en la alteración de la capacidad bactericida. En las pruebas de actividad bactericida se comprueba que la capacidad para destruir bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* tipo D y *Streptococcus pneumoniae* está disminuida en la primera fase de la prueba. Por el contrario, los sistemas bactericidas dependientes de la activación oxidativa

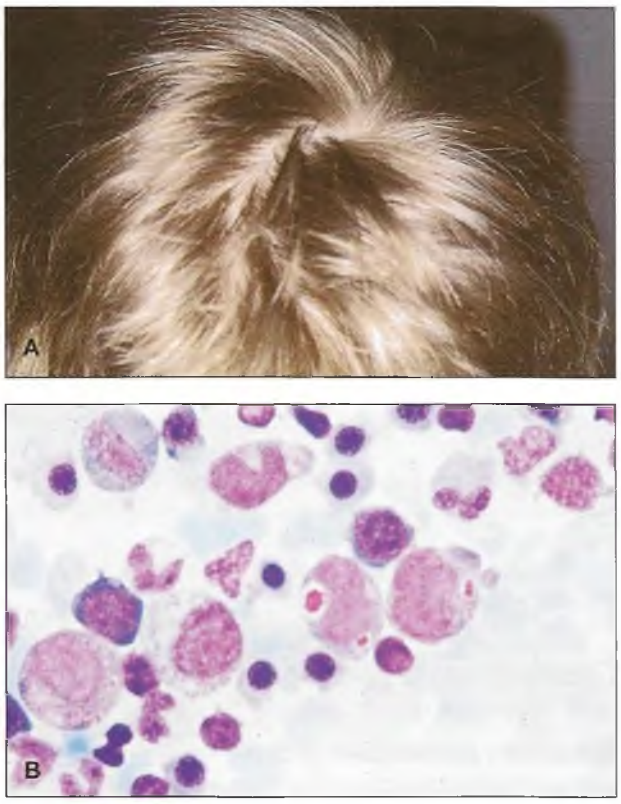


Figura 18.8. Síndrome de Chediak-Higashi. *a*) cabello de aspecto plateado; *b*) precursores mieloides con lisosomas gigantes y gruesas granulaciones (MGG, aumento original ×1.000).

son normales. Además de las alteraciones en los neutrófilos, los pacientes presentan una profunda alteración en la actividad de las células NK (*natural killer*) y en las propiedades citotóxicas y citolíticas de los linfocitos T, lo cual podría ser atribuible a una disfunción o deficiencia de las serín-proteasas[10].

El diagnóstico de este síndrome es simple a partir de las manifestaciones clínicas y la observación de las grandes inclusiones citoplasmáticas en los fagocitos. Como se mencionó anteriormente, la quimiotaxis se halla muy alterada, y la degranulación es tardía e incompleta. En relación con el pronóstico, en el pasado la mayoría de pacientes fallecía durante la niñez, y las causas más frecuentes eran las infecciones y las hemorragias. El desarrollo de la fase acelerada con hepatoesplenomegalia progresiva, pancitopenia, hemofagocitosis y, en ocasiones, complicaciones neurológicas, constituye generalmente un signo ominoso[29]. Se ha relacionado la fase acelerada con la incapacidad de los pacientes para controlar infecciones por VEB u otros virus, de modo similar a los síndromes de linfohistiocitosis hemofagocítica. Junto con los tratamientos de soporte, se ha comprobado que algunos pacientes se benefician del tratamiento con ascorbato (500 mg al día por vía oral), lo que se traduce en una disminución de las infecciones. Según Weening, mediante este tratamiento se reducen las concentraciones elevadas de nucleótidos cíclicos[30]. El único tratamiento curativo es el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, realizado preferentemente antes de la fase acelerada.

Deficiencia en los gránulos específicos

Es una rara enfermedad congénita que predispone a las personas que la sufren a infecciones piogénicas recurrentes en piel, tejidos subcutáneos y tracto respiratorio, que casi siempre se deben a *Staphylococcus aureus*[31]. Aunque lo que más llama la atención es la ausencia de gránulos específicos, también se encuentran afectados los gránulos primarios y el núcleo; éste aparece en las preparaciones teñidas con una forma bilobulada o arriñonada que recuerda a la anomalía de Pelger-Hüet. La tinción para mieloperoxidasa es positiva, aunque los gránulos primarios aparecen en la ultraestructura anormalmente pequeños. Además de la deficiencia en lactoferrina y fosfatasa alcalina, el contenido en defensina de los gránulos azurófilos también está muy disminuido. Los gránulos específicos constituyen también una fuente de β-integrinas. En las pruebas *in vitro*, la actividad bactericida frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* se halla disminuida, y la quimiotaxis está muy alterada. Se comprueba la presencia de respuesta oxidativa a los estímulos, aunque puede estar disminuida[10,32]. El defecto molecular no ha sido identificado.

Déficit de mieloperoxidasa

La mieloperoxidasa es un componente de los gránulos primarios de neutrófilos y monocitos que tiene acción microbicida sólo en presencia de peróxido de hidrógeno y radicales haluro. Cataliza la formación de ácido hipocloroso y cloramina, productos que atacan a las proteínas microbianas, oxidando los grupos sulfidrílicos.

La deficiencia hereditaria en mieloperoxidasa es una enfermedad autosómica recesiva bastante frecuente que se manifiesta en forma de déficit total o parcial de la enzima[33] (tabla 18.3). Los pacientes con déficit de mieloperoxidasa no suelen padecer un exceso de infecciones, probablemente porque otros sistemas microbicidas intactos actúan en forma compensadora, aunque en algunos casos se han descrito

TABLA 18.3

Deficiencia de mieloperoxidasa

Incidencia
1 en 4.000 (total)
1 en 2.000 (parcial)
Herencia
Autósomica recesiva de expresión variable
Gen de MPO en 17 (q22q23)
Manifestaciones clínicas
Generalmente, asintomática; en raras ocasiones, candidiasis diseminada (pacientes con diabetes)
Defecto funcional
Retraso en la acción bactericida *in vitro*
Fracaso de la acción candidicida *in vitro*
Diagnóstico
Los granulocitos y monocitos no tienen la reacción citoquímica de la peroxidasa (microscopia óptica y electrónica)
Los eosinófilos tienen una peroxidasa normal
Diagnóstico diferencial
Deficiencia de peroxidasa en leucemias mieloblásticas M2, M3 y M4 y en síndromes mielodisplásicos
Pronóstico
Excelente
Tratamiento
No se requiere en la mayoría de pacientes
Tratamiento antifúngico enérgico en los pacientes con candidiasis

infecciones graves por *Candida albicans*[34]. *In vitro*, los neutrófilos de los individuos afectados expresan un defecto moderado de la acción bactericida y un defecto más marcado de la candidicida. En respuesta a los estímulos, la activación oxidativa es más intensa y prolongada que habitualmente. En la actualidad, es más fácil diagnosticar a los pacientes sin manifestaciones clínicas, tras observar los recuentos diferenciales de leucocitos con contadores que identifican a los granulocitos por su contenido en peroxidasa. Se observa una deficiencia parcial de mieloperoxidasa en los casos de leucemia mieloblástica M2, M3 y M4, y en los síndromes mielodisplásicos. Se ha localizado el gen de la peroxidasa en el cromosoma 17[4,10]. Dada la naturaleza clínicamente benigna de la enfermedad, no se requieren tratamientos especiales.

Granulocitopatías por deficiencia en los mecanismos metabólicos de activación oxidativa

Los neutrófilos con defectos en la explosión oxidativa suelen tener una capacidad de adhesión, quimiotaxis y endocitosis fagocítica normales, pero su actividad microbicida intracelular es anormal. Se incluyen en este apartado la enfermedad granulomatosa crónica y los déficit en glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa, glutatión-reductasa y glutatión-sintetasa.

Enfermedad granulomatosa crónica (EGC)

La EGC es, desde el punto de vista clínico, una enfermedad hereditaria en la que existe una intensa alteración de la función bactericida y fungicida, y que se caracteriza por infecciones recurrentes de diversa localización (principalmente, en ganglios, piel, hígado y pulmones) que tienden a formar lesiones granulomatosas y que van acompañadas de hipergammaglobulinemia, anemia y leucocitosis. Desde el punto de vista genético y biológico, la EGC constituye un heterogéneo grupo de enfermedades que tienen en común el fracaso en la activación del metabolismo oxidativo de los fagocitos y, por consiguiente, en la falta de producción de O^-_2, H_2O_2 y de los mecanismos bactericidas dependientes de estos productos[1-3,6,13,28,35-38].

Berendes, Bridges y Good[35] describieron esta enfermedad en 1957, y su estudio dio un notable impulso a la investigación de los mecanismos de las funciones bactericidas.

Patogenia

Holmes y Quie, en 1967, observaron que los granulocitos en la EGC eran capaces de ingerir normalmente los gérmenes (bacterias y hongos), pero no los destruían[36]. Después se demostró que, mientras en los granulocitos normales la fagocitosis va acompañada de un gran incremento en el consumo de O_2 y una estimulación de la vía hexosa-monofosfato de la glucólisis, en los de la EGC no se producía aumento de consumo de O_2 ni formación de O^-_2 ni de H_2O_2. En 1975, Hohn y Lehrer[37] hallaron, además, un defecto en la actividad de la NADPH-oxidasa en los granulocitos de la ECG durante la fagocitosis. La importancia fisiopatológica de este déficit en la EGC se ha visto posteriormente confirmada (fig. 18.5). Después de extensos estudios llevados a cabo en los últimos años, se ha llegado al conocimiento de que la NADPH-oxidasa es un complejo enzimático con diversos componentes, cuyo concurso es necesario para la correcta función: dos de estos componentes se hallan en la membrana y constituyen el citocromo b_{245}; son dos subunidades que se denominan, respectivamente, $gp91^{PHOX}$ (glucoproteína de 91 kDa de la fagocito-oxidasa) y $p22^{PHOX}$. El citosol contiene, a su vez, por lo menos tres componentes: $p47^{PHOX}$, $p67^{PHOX}$ y $p40^{PHOX}$. La deficiencia de cualquiera de los citados componentes da lugar a una falta de actividad NADPH-oxidasa[6,38-41].

La falta de producción de H_2O_2 se traduce en el fracaso del sistema bactericida mieloperoxidasa-haluro, uno de los más importantes para la lisis de diversas bacterias y hongos patógenos. Los microorganismos catalasapositivos como *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Serratia marcescens, Aspergillus* y *Candida* son capaces de metabolizar el H_2O_2 a H_2O y O_2, privando de este modo al granulocito de la posibilidad de utilizar el H_2O_2 residual; por ello, son los patógenos más comunes en esta enfermedad. Por el contrario, los microorganismos carentes de catalasa pueden ser destruidos por los granulocitos de la EGC, ya que ellos mismos aportan H_2O_2, que no pueden metabolizar.

Clasificación

Si nos basamos en el defecto de los componentes de la oxidasa, se distinguen, actualmente, cuatro tipos con distintas formas de expresión clínica (tabla 18.4). Los defectos en los componentes de la membrana se denominan IA y IB, y los del citosol, IIA y IIB. El defecto gp91 se hereda con el cromosoma X, y constituye, aproximadamente, el 60% de todos los casos de EGC; en la mayoría hay una ausencia total de la glucoproteína y del citocromo b, de reacción del NBT y de producción de O^-_2. En muy pocos casos existe un defecto parcial o bien se halla la gp91 en concentraciones normales, pero no es funcional. Las EGC por defectos de $p22^{PHOX}$ son muy poco frecuentes y, como en los siguientes tipos, la herencia es autosómica recesiva. El tipo IIA (defecto en el componente del citosol p47) es el más frecuente entre las EGC de herencia autosómica. En él, las concentraciones de citocromo b son normales[3,38-41].

Clínica (tabla 18.5)

Aunque en más del 90% de los pacientes con EGC la producción de O_2 tras incubación de los fagocitos es inferior al 1% del valor normal, la frecuencia y la gravedad de las manifestaciones clínicas son muy variables. En la mayoría de casos, las primeras manifestaciones clínicas aparecen en el curso de los dos primeros años de vida, y luego se suceden a intervalos relativamente cortos. Sin embargo, en algunos pacientes, la primera manifestación puede aparecer tras varios años de vida, inclusive en adolescentes, en forma de absceso hepático o de una neumonía por *Aspergillus* o *Nocardia*. Aunque los primeros pacientes descritos fallecieron todos en la primera década de la vida, con una vigilancia estrecha y unos buenos cuidados se consigue que en bastantes casos alcancen la edad adulta. Nuestros dos primeros pacientes, diagnosticados en 1969 y 1970, han alcanzado la edad adulta y gozan de una buena calidad de vida[42,43]. En los últimos años se han descrito pacientes que han sido diagnosticados de EGC en la edad adulta, pese a presentar manifestaciones clínicas desde niños[44].

Las primeras manifestaciones clínicas suelen consistir en dermatitis y adenitis. Antes de los 5 años, la mayoría ya ha padecido linfoadenopatías persistentes, algunas supurativas, hepatoesplenomegalia y anemia característica de los procesos

TABLA 18.4

Clasificación de la enfermedad granulomatosa crónica

Tipos	Subtipos	Herencia	Concentración de citocromo	NBT (% positivo)	Producción de O_2 (% de normal)	*Locus* del gen	Frecuencia (%)
I	Defectos de NADPH ox. en membrana						
A	gp91-phox	X				Xp21.1	60
	– Ausente		0	0	< 1		50
	– Parcial		Disminuido	80-100% (débil)	1-10		5-10
	– No funcional		Normal	0	< 1		1-5
B	p22-phox						
	– Ausente	AR	0	0	< 1	16q24	5-10
II	Defectos de NADPH-oxidasa en citosol						
A	p47-phox	AR	Normal	0	< 1	7q11.23	30
B	p67-phox	AR	Normal	0	< 1	1q25	5

X: ligada al cromosoma X; AR: autosómica recesiva; gp91-phox: subunidad del citocromo b de glucoproteína 91 kD; p22-phox: subunidad del citocromo b de 22 kD; p47-phox: componente de la oxidasa del citosol de 47 kD; p67-phox: componente de la oxidasa del citosol de 67 kD.

TABLA 18.5

Enfermedad granulomatosa crónica

Incidencia: 1 en 250.000
Sexo masculino/femenino: 4/1
Herencia: ligada al cromosoma X: 60%
autosómica recesiva: 40%
Edad de inicio: antes de 1 año en el 80%
Manifestaciones clínicas:
adenitis, abscesos cutáneos, hepatomegalia, esplenomegalia, abscesos hepáticos, neumonía, estomatitis, estenosis gastrointestinales, abscesos perianales, osteomielitis, pielonefritis, anemia hipocroma, leucocitosis

Gérmenes:
Bacterias: *Staphylococcus aureus, Klebsiella, Serratia marcescens, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella* sp.
Hongos: *Aspergillus* sp., *Candida albicans*
Nocardia
Micobacterias
Lesiones: granulomas, abscesos, necrosis tisular
Pronóstico: variable
Tratamiento: tratamiento precoz de las infecciones con antibióticos específicos y drenaje quirúrgico
profilaxis infecciones: cotrimoxazol, interferón gamma, itraconazol
trasplante de médula ósea (algunos casos)

crónicos. Entre los procesos agudos que evolucionan con fiebre persistente, los más frecuentes son abscesos hepáticos, abscesos subcutáneos y perirrectales, osteomielitis, neumonías, sinusitis y pielonefritis[43]. Los gérmenes aislados con mayor frecuencia son las bacterias: *Staphylococcus aureus* seguido a distancia por bacterias gramnegativas (*Pseudomonas cepacia, Salmonella, Serratia marcescens, Klebsiella* y *Escherichia coli*), y entre los hongos, *Aspergillus* sp. (como causa de neumonías de evolución tórpida) y *Candida albicans*. También debe pensarse en las micobacterias. Los procesos pulmonares son frecuentes e incluyen bronconeumonías y abscesos pulmonares. Una lesión frecuente en nuestra experiencia es la obstrucción intestinal asociada con estenosis gástrica, que se manifiesta por vómitos persistentes y malnutrición (fig. 18.9). Esta obstrucción se debe a lesiones granulomatosas e infiltrados crónicos de células inflamatorias en la pared gastrointestinal. Este mismo tipo de lesiones se ha identificado en la pared de la vejiga urinaria, dando lugar a cistitis crónica y, en algunos casos, a hidroureteronefrosis. Otros tipos de lesiones inflamatorias crónicas incluyen gingivitis, estomatitis ulcerosa, coriorretinitis y glomerulonefritis[4].

Diagnóstico

En más del 90% de los pacientes, la producción de superóxido por los fagocitos activados es indetectable, y en el 10% es del 1 al 10%. Este fracaso puede ponerse de manifiesto por distintas técnicas.

Las pruebas específicas para confirmar una EGC incluyen las pruebas de actividad bactericida y las de NBT en sus distintas variantes (fig. 18.9). El estudio se completa con otra prueba que determine la activación del metabolismo oxidativo, como el consumo de O_2 inducido por estimulación, la ioduración bacteriana, la quimioluminiscencia o el más moderno y simple método de citometría de flujo antes descrito[18-21]. Una vez confirmado el diagnóstico de EGC, el diagnóstico del tipo requiere determinar las concentraciones de citocromo b por análisis espectrofotométrico y los estudios de actividad de oxidasa en la membrana y en el citosol. Estos últimos deben realizarse en laboratorios especializados. El diagnóstico de portadoras en el tipo IA puede realizarse con la prueba de NBT. También con esta prueba puede rea-

Figura 18.9. Estenosis gástrica en paciente con EGC producida por lesiones granulomatosas e infiltrados inflamatorios en la pared gástrica.

zarse el diagnóstico prenatal sobre sangre fetal obtenida por fetoscopia o por punción percutánea umbilical. La identificación del subgrupo genético específico es útil fundamentalmente para el consejo genético y diagnóstico prenatal. Mediante el análisis de DNA en células de líquido amniótico o en biopsias de vellosidades del cordón puede efectuarse un diagnóstico prenatal más temprano y seguro[41].

Pronóstico y tratamiento

Aproximadamente, el 50% de los pacientes sobreviven a los 10 años, y muchos de ellos alcanzan actualmente la tercera década de vida. El tratamiento incluye varios aspectos:

a) Prevención y tratamiento precoz de las infecciones mediante empleo profiláctico de cotrimoxazol y dicloxacilina y, enventualmente, un antifúngico, y uso precoz y enérgico de antibióticos intravenosos y drenaje quirúrgico en los abscesos.
b) En pacientes graves con frecuentes infecciones, empleo profiláctico de IFN-γ.
c) Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos en los casos graves.

Los pacientes con defectos en los componentes citostáticos de la oxidasa, en general, presentan una clínica menos grave.

Defectos en la producción o regeneración de nicotinamida adenindinucleótido fosfato reducido (NADPH)

La *deficiencia en glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa* (G-6-PD) puede dar lugar a un defecto en la regeneración de NADPH, y atenúa o impide la explosión oxidativa al faltar el sustrato inicial de las reacciones. El cuadro clínico resultante es similar al de la EGC. Es una enfermedad de herencia ligada al cromosoma X, mucho más rara de lo que haría suponer la incidencia del defecto en los eritrocitos, y sólo se ha observado en algunas personas que padecen formas de anemia hemolítica crónica. En estos pacientes, las concentraciones de actividad de G-6-PD en los granulocitos son inferiores al 5%[1,3,4,28].

También se han descrito algunos pacientes con defectos congénitos en dos enzimas del metabolismo del glutatión: glutatión-reductasa y glutatión-sintetasa, que presentaban una actividad bactericida *in vitro* alterada, aunque sin un aumento en la frecuencia y gravedad de las infecciones. El glutatión en forma reducida (GSH) protege a la célula de la agresión oxidativa. Para mantener las concentraciones requeridas de GSH se requiere reciclarlo a partir de la forma oxidada (GSSG) por acción de la glutatión-reductasa, y sintetizarlo mediante una reacción catalizada por la glutatión-sintetasa. Ambos defectos, de herencia autosómica, se han diagnosticado en pacientes que habían presentado hemólisis bajo la acción de agresiones oxidativas[3].

Tratamiento de las granulocitopatías funcionales

Los pacientes con disfunciones granulocitarias presentan manifestaciones clínicas similares, que incluyen infecciones recurrentes y abscesos. La identificación del germen, el empleo precoz y juicioso de los antibióticos más adecuados y el drenaje quirúrgico, cuando se requiera, son los tres pilares del tratamiento. La administración profiláctica de quimioterapia se ha mostrado útil en la EGC. Los fármacos más usados son cotrimoxazol en dosis de 5 mg/kg/día de trimetroprim y la dicloxacilina (25-50 mg/kg/día). Para la prevención de las infecciones por *Aspergillus*, actualmente se recomienda en los casos de EGC añadir al cotrimoxazol, itraconazol oral en suspensión.

Se ha practicado la transfusión de granulocitos en casos excepcionales de infecciones muy graves, resistentes a los antibióticos, con algún resultado favorable.

Entre los tratamientos farmacológicos que han producido resultados favorables merecen citarse los siguientes:

En los defectos en la quimiotaxis (síndrome de Chediak-Higashi, síndrome de hiper-IgE), la administración de vitamina C se ha mostrado beneficiosa en algunos pacientes. En el síndrome de hiper-IgE también se han obtenido algunos resultados con el empleo de antagonistas de los receptores H_2 de la histamina y con IFN-γ.

A raíz de la aparición de varias publicaciones en las que se atribuía al IFN-γ un efecto activador de la explosión oxidativa, se realizó recientemente un ensayo prospectivo multicéntrico en 128 pacientes afectados de EGC. Los resultados, publicados en 1991, mostraban que los pacientes tratados con IFN-γ (50 μg/m^2 s.c. tres veces por semana) sufrían sólo una tercera parte de infecciones que los tratados con placebo[45]. Este tratamiento beneficiaba a pacientes con los distintos tipos de EGC. El mecanismo de acción del IFN-γ todavía no ha sido aclarado, pero parece que refuerza los mecanismos microbicidas no oxidativos[46]. Un seguimiento del tratamiento durante 4 años en una serie de pacientes demostró que era bien tolerado[47].

El trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (TPH) estaría indicado en los casos de granulocitopatías funcionales que cursan con infecciones graves, si se dispone de un donante adecuado. Existe experiencia, con resultados cada vez más alentadores, de TPH en pacientes con defecto de adhesión leucocitaria, enfermedad de Chediak-Higashi y EGC[48-50].

La terapéutica génica en los casos en que se hayan detectado los genes codificados, como en el caso de la EGC, hay que considerarla como una expectativa para el futuro[41].

ANOMALÍAS CONSTITUCIONALES DE LOS GRANULOCITOS

Son alteraciones morfológicas hereditarias que sólo ocasionalmente van acompañadas de alteraciones funcionales.

Antes ya se ha hecho referencia a las granulaciones gigantes del síndrome de Chediak-Higashi.

Anomalía de Pelger-Hüet

De herencia autosómica dominante, se caracteriza por un defecto en la segmentación nuclear que da lugar a que la mayoría de los neutrófilos tengan un núcleo bilobulado y que la cromatina aparezca más densa (fig. 18.10). Los dos lóbulos aparecen unidos por un puente más delgado del que se observa en los neutrófilos en banda, que son las células normales más parecidas. No se han hallado alteraciones funcionales importantes ni hay manifestaciones clínicas en las formas heterocigotas, aunque en algún caso se ha descrito un defecto en la quimiotaxis[51]. En las formas homocigotas, los neutrófilos contienen un núcleo redondo y excéntrico con cromatina condensada.

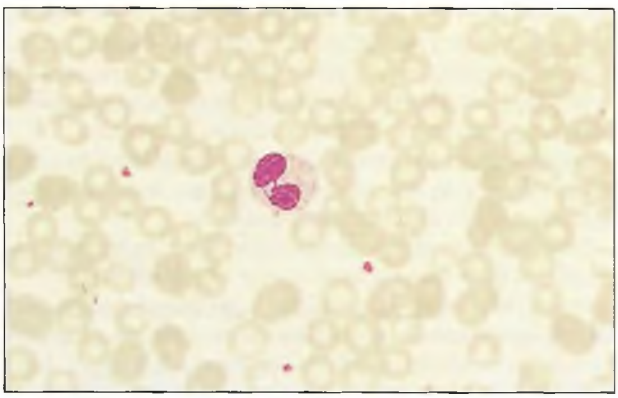


Figura 18.10. Anomalía de Pelger-Hüet. Aspecto bilobulado del neutrófilo.

Anomalía de May-Hegglin

Se caracteriza porque los granulocitos contienen unas inclusiones basófilas, llamadas *cuerpos de Döhle*. Es una anomalía de herencia autosómica dominante que se asocia con anomalías en las plaquetas, que son gigantes con grandes gránulos en su interior y, a menudo, están disminuidas en número. No se han hallado alteraciones en la función de granulocitos y plaquetas.

Anomalía de Alder-Reilly

Se caracteriza por la presencia de gruesos gránulos de coloración purpúrea en el citoplasma de los neutrófilos. Se observa en pacientes afectados de enfermedad de Hurler y otras mucopolisacaridosis; los gránulos contienen depósitos de mucopolisacáridos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Yang KD, Hill HR. Neutrophil function disorders: pathophysiology, prevention and therapy. J Pediatr 1991; 119:343-354.
2. Abramson JS, Wheeler JG, Quie PG. The polymorphonuclear phagocytic system. En: Stiehm M, ed. Immunologic disorders in infants and children. Filadelfia: W.B. Saunders, 1989; 68-80.
3. Dinauer MC. The phagocyte system and disorders of granulopoiesis and granulocyte function. En: Nathan DG, Orkin SH (eds.). Hematology of infancy and childhood, 5.ª ed. Filadelfia: WB Saunders, 1998; 22:890-989.
4. Gollin JB, Stossel TP. The phagoyte system: structure and function. En: Nathan DG, Oski KA, (eds.). Hematology of infancy and childhood. 4.ª ed. Filadelfia: W.B. Saunders, 1993; 882-903.
5. Graham IL. Leukocyte adhesion deficiency: functional consequences in neutrophils: Int J Pediat Hemat/Oncol 1996; 3:327-338.
6. Hilliard LM, Howard TH. Polymorphonuclear leukocyte motility. Cellular and structural dynamics. Int J Pediat Hemat/Oncol 1996; 3: 339-352.
7. Babior BM. NADPH oxidase: An update (review article). Blood 1999; 93:1464-1476.
8. Hampton MB, Kettle AJ, Winterbourn CC. Inside the Neutrophil Phagosome: oxidants, myeloperoxidase and bacterial killing. Blood 1999; 92:3007-3017.
9. Klebanoff SJ, Clark RA. The neutrophil: Function and clinical disorders. Amsterdam: North Holland Pub, 1978.
10. Lehrer IR, Ganz T. Antimicrobial polypeptides of human neutrophils. Blood 1990; 76:2169-2181.
11. Souid AK, Kennedy G. Physiology of neutrophil development. Int J Pediat Hemat/Oncol 1996; 3:375-386.
12. Colotta F, Re F, Polentarutti N et al. Maduration of granulocyte survival and programmed cell death by cytokins and bacterial products. Blood 1992; 80:2012-2020.
13. Quie PG, White JG, Holmes B, Good RA. In vitro bactericidal capacity of human polymorphonuclear leukocytes. Diminished activity in chronic granulomatous disease in children. J Clin Invest 1967; 46: 668-679.
14. Cline MJ. A new white cell test which measures individual phagocyte function in a mixed leukocyte population. J Lab Clin Med 1973; 81:311-316.
15. Rebuck JW, Crowley JH. A method of studying leukocyte functions in vivo. Ann NY Acad Sci 1955; 59:757-760.
16. Boyden S. The chemotactic effect of mixtures of antibody and antigen on polymorphonuclear leukocytes. J Exp Med 1992; 115:455-466.
17. Nelson RD, Quie PG, Simmons RL. Chemotaxis under agarose: a new and simple method for measuring chemotaxis and spontaneous migration of human polymorphonuclear leukocytes and monocytes. J Immunol 1975; 115:1650-1656.
18. Park BA, Holmes B, Bodey GE, Good RA. Nitro-blue tetrazolium test in children with fatal granulomatous disease and newborn infants. Lancet 1969; 1:157-159.
19. Johnston RB. Screening test for the diagnosis of chronic granulomatous disease. Pediatrics 1989; 43:122-124.
20. Vowells S, Sekhsaria S, Malech H, Shalit M, Fleisher T. Flow cytometric analysis of the granulocyte respiratory burst: a comparison study of fluorescent probes. J Immunol Meth 1995; 178:89-97.
21. Vowells S, Flleisher TA, Malech HC. Testing for chronic granulomatous disease. Lancet 1996; 347:1048-1049.
22. Schmalstieg FC. Leukocyte adherence defect. Pediatr Infect Dis J 1988; 7:867-872.
23. Anderson DC, Schmalstieg FC, Finegold J et al. The severe and moderate phenotypes of inheritable Mac-1, LFA-1 deficiency: their quantitative definition and relation to leukocyte dysfunction and clinical features. J Infect Dis 1985; 152:668-689.
24. Donabedian H, Gallin JL. The hyperimmunoglobulin E recurrent infection (Job's) Syndrome. Medicine (Baltimore) 1983; 62:195-2
25. Boxer LA, Hedley-White ET, Stossel TP. Neutrophil actin dysfunction and abnormal neutrophil behavior. N Engl J Med 1974; 291:1089-1099.
26. Miller ME, Oski FA, Harris MB. Lazy-leukocyte syndrome. Lancet 1971; 1:655-668.
27. Hill HR, Augustine NH, Newton JA et al. Correction of a developmental defect in neutrophil activation and movement. Am J Pathol 1987; 128:307-314.
28. Quie PG, Abramson JS. Disorders of the polymorphonuclear phagocytic system. En: Stiehm M, ed. Immunologic disorders in infants and children. Filadelfia: W.B. Saunders, 1989; 343-363.

CAPÍTULO 19

Introducción al estudio de las leucemias agudas. Clasificación. Descripción de las distintas variedades. Formas especiales

L. Florensa, E. Pérez-Vila y S. Woessner

ÍNDICE

Introducción
Epidemiología y etiología
Manifestaciones clínicas y de laboratorio
Manifestaciones clínicas de las leucemias agudas mieloblásticas (LAM)
Manifestaciones clínicas de las leucemias agudas linfoblásticas (LAL)
Clasificación de las leucemias agudas mieloblásticas
Generalidades
Leucemias agudas mieloides con alteraciones genéticas recurrentes
Leucemia aguda mieloide con displasia multilineal
Leucemias agudas mieloides y síndromes mielodisplásicos relacionados con la terapéutica
Leucemias agudas mieloides sin ninguna de las características de los grupos anteriores
Leucemias agudas de linaje ambiguo
Clasificación de las leucemias agudas linfoides
Leucemia aguda linfoblástica de precursor B/linfoma linfoblástico
Leucemia aguda linfoblástica de precursores T/linfoma linfoblástico
Bibliografía

INTRODUCCIÓN

Las leucemias agudas son proliferaciones clonales malignas de células hematopoyéticas inmaduras de tipo blástico que pueden afectar médula ósea, sangre periférica u otros tejidos.

El *diagnóstico* se basa en la observación de una blastosis medular que iguale o supere el 30% de la totalidad celular, o el 20% según las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud[1] (OMS), ya que el hallazgo de algunas células blásticas, tanto en médula ósea como en sangre periférica, no indica necesariamente la existencia de leucemia aguda. La blastosis medular suele oscilar entre el 50 y el 100%. Dado que la infiltración blástica suele ser difusa, el tanto por ciento de blastos de un aspirado a otro varía poco; sin embargo, en los estadios iniciales la distribución blástica puede ser focal. El diagnóstico correcto requiere el examen simultáneo de la sangre y de la médula ósea, y se aconseja que el porcentaje de los blastos se establezca sobre un contaje diferencial de 500 células realizado en el aspirado de médula ósea. La biopsia ósea no aporta en las leucemias agudas mayor rentabilidad diagnóstica que la punción aspirativa, salvo en aquellos casos en los que exista fracaso en la obtención de grumo medular, debido a una médula muy celular o con marcada fibrosis. Junto con la infiltración blástica medular se constata una disminución o desaparición de las células hematopoyéticas normales, con ausencia de los elementos de estadio madurativo intermedio (hiato leucémico). En las formas mieloides suelen aparecer acentuados signos morfológicos de disgranulopoyesis, como hipo y/o agranularidad y núcleos de aspecto pelgeroide[2]. Las restantes líneas celulares también suelen evidenciar la presencia de dismorfias.

El estudio morfológico óptico, citoquímico, ultraestructural, inmunológico y genético detallado es fundamental para etiquetar el tipo de leucemia aguda. La amplia metodología de estudio de las células blásticas se resume en la tabla 19.1.

Se distinguen dos tipos de leucemias agudas: las *de novo* y las secundarias. Las primeras se producen sin que se pueda identificar un proceso previo que justifique su aparición,

TABLA 19.1

Metodología de estudio de las células blásticas

Morfología óptica convencional
Citoquímica óptica
Mieloperoxidasa, negro Sudán, cloroacetatoesterasa, esterasas inespecíficas (inhibición con FNA), PAS (reacción del ácido peryódico de Schiff), rojo al aceite, fosfatasa ácida y tinción de Perls)
Microscopia electrónica de transmisión
Citoquímica e inmunocitoquímica ultraestructural
Mieloperoxidasa, peroxidasa plaquetaria, fosfatasa ácida
Bioquímica
Lisozima sérica y urinaria
Citogenética
Alteraciones cromosómicas numéricas y estructurales (técnicas de bandeo), citogenética interfásica (hibridación *in situ*)
Biología molecular
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y ensayo de transcripción reversa unido a PCR (RT-PCR)
Inmunología
Detección de diversos componentes y antígenos citoplásmicos y de membrana

mientras que las secundarias se presentan como la evolución final de otras enfermedades o en pacientes que han recibido quimioterapia o radioterapia. Según la línea hematopoyética implicada, se distinguen dos grandes grupos de leucemias agudas: las linfoblásticas, que afectan a los precursores linfoides, y las mieloblásticas, en las que la proliferación neoplásica acontece en las células comprometidas a la diferenciación mieloide (megacariocítica, granulomonocítica o eritroide). Con la aplicación del inmunofenotipo y de las técnicas citogenéticas y moleculares, se han identificado leucemias que expresan marcadores de línea linfoide y mieloide, denominándose mixtas. Entre ellas, se distinguen aquellas en las que los blastos expresan a la vez ambos tipos de marcadores (bifenotípicas) y las que tienen dos poblaciones de blastos (bilineales). Existe menos del 1% de leucemias en las que no se puede determinar la serie hematopoyética proliferante, y que afectan a células progenitoras muy inmaduras, y se denominan leucemias indiferenciadas.

El *diagnóstico diferencial* debe establecerse con diversas entidades. Desde el punto de vista morfológico, la mayor posibilidad de confusión se presenta frente a la mononucleosis infecciosa u otras reacciones leucemoides linfocitósicas. La serología vírica y la evolución clínica ayudan a aclarar el diagnóstico. Las metástasis medulares masivas del neuroblastoma, rabdomiosarcoma, sarcoma de Ewing o del cáncer anaplásico de pulmón, entre otros, pueden dar una imagen de leucemia aguda. La ausencia, en la sangre periférica, de las supuestas células blásticas hematopoyéticas y la existencia de síndrome leucoeritroblástico como expresión de la metástasis medular, ayudan a perfilar el diagnóstico del proceso extrahematológico, que se confirma por la positividad de las células neoplásicas con anticuerpos monoclonales específicos[2].

Las localizaciones medulares de linfomas centrofoliculares de células no hendidas y citoplasma basófilo pueden crear problemas diferenciales con las leucemias monoblásticas agudas. La leucemia mieloide crónica puede presentarse en fase blástica como manifestación inicial. El hallazgo del cromosoma Ph[1] y otras anomalías cromosómicas adicionales señalan el diagnóstico. En las leucemias agudas linfoides, si se ha instaurado un tratamiento con corticoides previo al examen citológico, el diagnóstico puede resultar muy difícil, e incluso imposible, debido a la posible desaparición precoz de los blastos. En esta circunstancia, sólo cabe esperar la evolución y la recaída para confirmar el diagnóstico. Los síndromes mielodisplásicos con exceso de blastos o en transformación plantean, asimismo, problemas diferenciales. La presencia de signos dishematopoyéticos intensos, promielocitosis y promonocitosis, ausencia de hiato leucémico y, sobre todo, un porcentaje de blastos que no supere el 20%, establecen el diagnóstico. El mielograma practicado precozmente, en el curso de la recuperación de una agranulocitosis tóxica con bloqueo a nivel promielocitario, puede inducir a confusión con una leucemia aguda promielocítica. La tuberculosis y la carcinomatosis generalizada también pueden ocasionar problemas diagnósticos, por la intensidad de la blastosis reactiva que provocan[2].

EPIDEMIOLOGÍA Y ETIOLOGÍA

El promedio de la incidencia de leucemia aguda en la población general es de 1 a 3 casos por cada 100.000 habitantes y año, y se observa un ligero predominio masculino. La leucemia aguda mieloide tiene una incidencia que aumenta exponencialmente con la edad; de menos de un caso por 100.000 habitantes y año para personas menores de 30 años, a 14 por 100.000 a los 75 años[3]. La incidencia de las leucemias mieloblásticas secundarias relacionadas con la terapia parece ir en aumento, y representan entre el 10 y el 20% de los casos de LAM del adulto[4]. La leucemia aguda linfoide en el adulto constituye, aproximadamente, el 15-20% de las leucemias agudas.

La *etiología* de las leucemias agudas se desconoce. Los factores genéticos tienen una gran importancia, como lo demuestra la mayor probabilidad de desarrollar una leucemia aguda que presentan los hermanos univitelinos de pacientes afectados. Diversas enfermedades congénitas, como la anemia de Fanconi, el síndrome de Bloom, la ataxia telangiectásica y el síndrome de Down, entre otros, se asocian con un riesgo leucémico incrementado[3].

Entre los factores externos involucrados en la patogenia de la leucemia aguda, la radiación ocupa un lugar importante. El exceso de leucemias agudas observado después de las explosiones atómicas y del tratamiento radioterápico de la espondilitis anquilopoyética así lo muestra. El benceno es el leucemógeno químico más conocido, como se ha demostrado por el aumento de leucemias agudas en trabajadores de industrias que lo manejan.

No se ha demostrado de forma convincente una etiología vírica en las leucemias agudas, aunque sí en algunos síndromes linfoproliferativos crónicos, como la leucemia-linfoma T del adulto relacionada con el virus HTLV-I y el linfoma de Burkitt con el virus de Epstein-Barr.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS Y DE LABORATORIO

Manifestaciones clínicas de las leucemias agudas mieloblásticas (LAM)

Los síntomas clínicos en las *leucemias agudas mieloblásticas* (LAM) se deben al fallo medular por la proliferación leucémica y la infiltración de diversos órganos y tejidos. La infiltra-

ción medular, que suele ser masiva en las leucemias agudas *de novo*, provoca citopenias con sus consiguientes manifestaciones sistémicas. El 80% de pacientes presenta anemia de intensidad variable, de tipo normocítica-normocroma. La trombocitopenia se registra en el 80-90% de casos, con un 40-60% de pacientes que manifiestan signos hemorrágicos en el momento del diagnóstico, más frecuentes si la cifra de plaquetas es inferior a 20×10^9/L. La diátesis hemorrágica comprende desde una simple púrpura petequial hasta una grave coagulación intravascular diseminada (CID). Esta última, es especialmente frecuente en la variedad promielocítica (75-90% de casos), pero también puede suceder en el 5-25% de las variedades mieloblásticas con y sin maduración, mielomonocíticas y monoblásticas, mientras que en la leucemia aguda linfoide su incidencia es inferior al 5%. Las hemorragias retinianas son frecuentes, y en su producción, aparte de la trombocitopenia, se involucra también la infiltración leucémica ocular y la anemia intensa[5].

La fiebre también es una característica clínica frecuente, y se debe, mayoritariamente, a una etiología infecciosa. Presentan neutropenia entre el 30 y el 50% de enfermos, y es la máxima causante de las infecciones.

La mediana de la cifra leucocitaria es de 15-20 $\times 10^9$/L, y en el 85% de casos se observan blastos en sangre periférica. En el 10% de pacientes, el número de leucocitos supera los 100×10^9/L, como sucede con mayor frecuencia en las variedades monocítica y mielomonocítica, lo cual puede ocasionar síntomas relacionados con la hiperleucocitosis en el sistema nervioso central (SNC) y en el pulmón[5].

La infiltración leucémica cutánea de la dermis origina lesiones papulonodulares indoloras y no pruriginosas (leucémides). Su incidencia global es del 10% en las LAM, y es más frecuente (18-33%) en las variedades mielomonocítica y monoblástica. Parece que existe correlación entre la infiltración cutánea y la invasión meníngea, pues esta última se ha observado en algún momento del curso evolutivo en un tercio de pacientes que tienen afectada la piel. Más rara vez pueden advertirse pioderma gangrenoso y lesiones del tipo de las observadas en el síndrome de Sweet o dermatosis neutrofílica aguda, caracterizado por fiebre, neutrofilia, lesiones cutáneas e infiltrado difuso de la dermis por neutrófilos polisegmentados[5].

La infiltración meníngea, como manifestación inicial, se detecta en sólo el 1% de LAM, pero es más frecuente en las recaídas (3%), sobre todo en la forma monocítica. En esta variedad, la hipertrofia gingival por infiltración es especialmente habitual (25-50%) y característica[5].

La exploración física de los pacientes con LAM, aparte de las anomalías clínicas causadas por las citopenias e infiltración tisular, demuestra en el 10-25% de casos linfadenopatías y visceromegalias valorables. La hiperuricemia es frecuente, así como el aumento de la LDH (lacticodeshidrogenasa).

Manifestaciones clínicas de las leucemias agudas linfoblásticas (LAL)

Las manifestaciones clínicas de las leucemias agudas linfoblásticas infantiles se revisan en el Capítulo 20. Se comenta a continuación la clínica y los datos de laboratorio de la LAL del adulto.

La leucemia aguda linfoblástica representa el 15-25% del total de las leucemias agudas. Se denomina del adulto cuando el paciente sobrepasa la edad de 15 años. Aparte de una sintomatología inespecífica, común a todas las leucemias agudas, el examen físico demuestra, en la mitad de pacientes, linfadenopatías, generalmente cervicales, y esplenomegalia. El 50% de casos también presenta hepatomegalia. En el 15% de todos los pacientes se detecta masa mediastínica, que en el 85% corresponde a un fenotipo inmunológico T.

Las lesiones óseas, con el correspondiente dolor seudorreumático y la infiltración testicular, tan característica de la LAL infantil, apenas se detectan en el adulto. El 5-10% de pacientes muestran signos de afección neuromeníngea, en forma de cefaleas, papiledema y parálisis de los nervios craneales. Se consideran factores de riesgo asociados con la infiltración del SNC: *a*) el fenotipo T; *b*) la morfología L3 de la FAB, y *c*) una cifra leucocitaria inicial elevada. El 2-3% de pacientes sufren afección del SNC sin clínica manifiesta, lo cual se detecta únicamente por examen del LCR, prueba obligatoria al diagnóstico[6,7].

Analíticamente, el 27% de enfermos presenta un recuento de leucocitos inferior a 5×10^9/L, y el 16% supera los 100×10^9/L. Incluso en los casos que se inician con leucopenia, más del 90% de enfermos muestra linfoblastos en sangre periférica. La cifra de plaquetas es inferior a 50×10^9/L en el 52% de casos. La anemia es prácticamente constante, con un 28% de pacientes con valores de hemoglobina inferiores a 80 g/L[7].

Un tercio de enfermos manifiesta mínimos signos de sangrado en el momento del diagnóstico. Es importante destacar que el 5% tiene fibrinógeno inicial inferior a 100 mg/dL, que debe ser valorado cuidadosamente si en el tratamiento quimioterápico interviene la L-asparaginasa[7].

El 96% de pacientes presenta una infiltración medular de blastos linfoides superior al 50% y, a diferencia de las LAM, no suelen apreciarse signos morfológicos dishematopoyéticos previos a toda terapéutica en la celularidad normal residual. Es interesante destacar que en la serie de Hoelzer, de más de 1.200 casos, en el 16% fue necesaria una biopsia medular, al ser el aspirado improductivo por médula empaquetada (*packed marrow*) o fibrosis reticulínica[7].

CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS MIELOBLÁSTICAS

Generalidades

La clasificación de las leucemias agudas que ha gozado de mayor difusión y aceptación en el ámbito hematológico internacional ha sido la elaborada en 1976 y modificada posteriormente por el Grupo Cooperativo Franco-Americano-Británico (FAB)[8-10]. Esta clasificación se basa en el aspecto morfológico, línea celular afectada, grado de maduración, comportamiento citoquímico e inmunofenotípico de las células blásticas antes de establecer cualquier terapéutica. De esta forma, fue posible subclasificar las LAM en 8 categorías: una leucemia aguda con mínima diferenciación mieloide o M0, tres de componente neutrófilo (M1, M2 y M3), una de componente neutrófilo-monocítico (M4), una monocítica (M5), una mieloeritroide (M6) y una variedad denominada M7 o leucemia aguda a megacarioblastos. Las LAL tanto de linaje B como T, las divide en tres categorías morfológicas: L1, L2 y L3, que se describen en el apartado de leucemias agudas linfoblásticas.

En la tabla 19.2 se muestran los criterios diagnósticos de las diferentes variedades de leucemias mieloides aceptadas por el grupo FAB.

TABLA 19.2

Clasificación FAB de las leucemias agudas mieloides

Subtipo FAB	Denominación	Diferenciación predominante	Blastos (%)	Componente granulocítico* (%)	Componente monocítico** (%)
M0	Mieloblástica aguda con mínima diferenciación	–	> 30		
M1	Mieloblástica aguda sin maduración	Granulocítica	> 90 > 3 MPO o NS+	< 10	< 10
M2	Mieloblástica aguda con maduración	Granulocítica	30-89	> 10	< 20
M3	Promielocítica	Granulocítica	> 30 promielocitos anómalos con bastones de Auer y/o astillas		
M3v	Promielocítica (forma microgranular)	Granulocítica	> 30 promielocitos anómalos con gránulos no visibles Astillas ocasionales		
M4	Mielomonocítica aguda	Granulocítica y monocítica	> 30	> 20	> 20
M4eos	Mielomonocítica aguda (variante con eosinofilia)	Granulocítica y monocítica	> 30 eosinófilos atípicos		
M5a	Monoblástica aguda	Monocítica	> 30	< 20	> 80 (monoblastos)
M5b	Monocítica	Monocítica	> 30	< 20	< 80 (monoblastos)
M6	Eritroleucemia	Eritrocítica y granulocítica	> 30 mieloblastos sobre CNE > 50% de eritroblastos		
M7	Megacaroblástica	Megacariocítica	> 30		

*Promielocitos a polimorfonucleares.

**Monoblastos a monocitos.

MPO: mieloperoxidasa; NS: negro Sudán; CNE: celularidad no eritroide.

El grupo FAB reconoce básicamente dos tipos de blastos mieloides: el blasto tipo I que tiene un gran núcleo central con cromatina finamente dispersa y uno o dos nucléolos; el citoplasma es basófilo y agranular sin bastones de Auer; el blasto tipo II se define por la presencia en el citoplasma de gránulos azurófilos en número inferior a 20, la cromatina suele ser más condensada, los nucléolos más prominentes y el citoplasma más abundante[8-11]. En la clasificación de las LAM del FAB, se realiza un contaje celular diferencial en médula ósea, y si se registra menos del 50% de precursores rojos, sobre el total de células medulares, y el 30% o más de células blásticas (a diferencia del 20%, según clasificación de la OMS)[1], también sobre el total celular, se diagnostica una leucemia aguda mieloide, variedades M0, M1-M5 y M7. Por el contrario, si hay un 50% o más de eritroblastos sobre el total de células medulares, pero menos del 30% de blastos (a diferencia del 20% de la clasificación de la OMS)[1] sobre un total de células no eritroides, el diagnóstico resultante es de síndrome mielodisplásico. Sólo en el caso de que exista una eritroblastosis del 50% o más y la cifra de blastos mieloides, calculada sobre el total de células no eritroides, iguale o supere el 30% (el 20% según clasificación de la OMS)[1], puede establecerse el diagnóstico de variedad M6 o eritroleucemia (fig. 19.1). Los porcentajes deben establecerse, a ser posible, sobre recuentos de 500 elementos medulares.

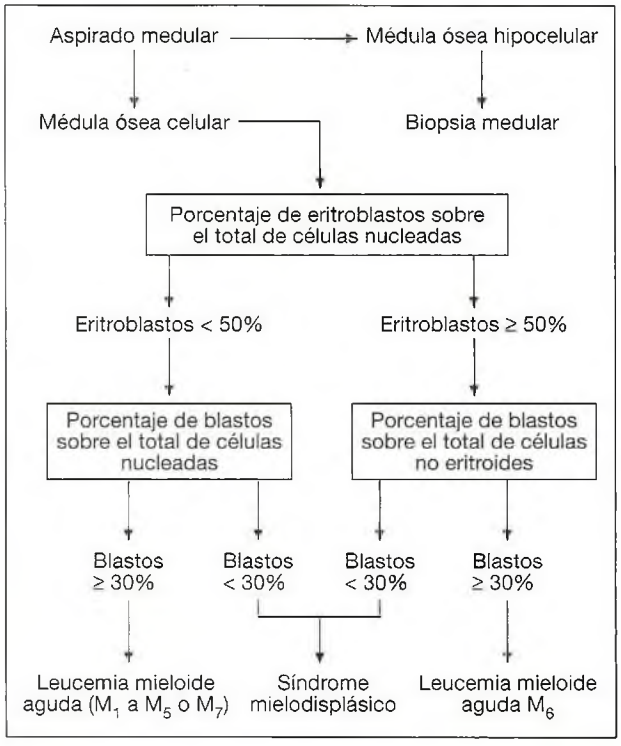


Figura 19.1. Procedimiento a seguir en el análisis de un aspirado medular para diferenciar una leucemia mieloide aguda de un síndrome mielodisplásico.

Morfología

Respecto a la morfología, aparte de la asignación a una variedad concreta, se debe comentar el significado clínico de la presencia de signos morfológicos displásicos. La mielodisplasia que afecta simultáneamente a las líneas eritroide, granulocítica y megacariocítica se observa en el 12-15% de leucemias agudas *de novo*[12]. Los pacientes con morfología mielodisplásica son clasificados, con mayor frecuencia, en la variedad M6, M7 y M4, y prácticamente nunca en la variedad M3. El tanto por ciento de remisión completa (RC) es menor en las leucemias mieloides con esta característica.

Citoquímica

La citoquímica utilizada para ayudar a tipificar el linaje de una leucemia se centra básicamente en las tinciones de la mieloperoxidasa (MPO), negro Sudán y esterasas. La presencia de más del 3% de blastos MPO positivos permite verificar su filiación como mieloblastos. Junto con ellas, en algún caso, se utiliza la reacción del PAS, la tinción de Perls y la peroxidasa plaquetar a nivel ultraestructural. Todas estas técnicas se describen con detalle en el Capítulo 2. En la tabla 19.3 se detallan las reacciones citoquímicas más características[2].

Posteriormente a la clasificación del FAB se desarrolló una nueva clasificación, denominada MIC, basada en datos Morfológicos, Inmunofenotípicos y Citogenéticos. Gracias a ella, se perfilaron nuevas subvariedades de interés clinicopronóstico[13].

Inmunofenotipo

La caracterización inmunofenotípica se lleva a cabo mediante una amplia batería de anticuerpos monoclonales; algunos de éstos reaccionan con antígenos bien definidos, específicos para una determinada línea celular e, incluso, para un estadio madurativo concreto; otros son menos restrictivos, pero, cuando se emplean como parte de una serie, también prestan una valiosa contribución diagnóstica y pronóstica al delimitar

TABLA 19.3

Comportamiento citoquímico de las leucemias agudas mieloides (FAB)

Reacción citoquímica	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
Mieloperoxidasa	–	+	++	+++	++	–/+	+	–
Negro Sudán B	–	+	++	+++	++	–/+	+	–
Cloroacetatoesterasa	–	–/+	++	+++	–/+	–	+	–
Glucógeno (PAS)	–	+d	+d	+d/m	+d	+d/m	+d/m	+m
Esterasas inespecíficas (FNa sensibles)	+/–	–	–	–	+	++	–	+
Fosfatasa ácida tartrato-sensible	–	+d	+d	+d	+d	++d	+d	++
Betaglucuronidasa	–	+d	+d	+d	+d	++d	++d	

–/+, +/–, +, ++, +++: diferentes grados de positividad; d: difuso; m: mazacotes; FNa: fluoruro sódico.

nuevas variantes y reconocer leucemias con marcadores linfoides y mieloides[14,15]. El uso de 2 o 3 anticuerpos para cada una de las tres principales estirpes –B, T y mieloide– permite establecer una clasificación inmunológica de las leucemias agudas, que identifica correctamente la estirpe en el 98-99% de casos (tabla 19.4). En la tabla 19.5 se detallan los principales anticuerpos monoclonales utilizados en el inmunofenotipo de una leucemia aguda mieloide.

TABLA 19.4

Panel de anticuerpos monoclonales específicos de línea para la clasificación de las leucemias agudas (OMS)

- Precursores hematopoyéticos:
  CD34, HLA-DR, TdT, CD45
- Línea B
  CD19, CD20, CD22[1], CD79a[1,2]
- Línea T
  CD2, CD3[1], CD5, CD7
- Mieloides
  CD13, CD33, CD15, MPO[1], CD117
- Línea megacarioblástica
  CD41, CD61
- Línea eritroblástica
  CD36, CD71, antiglicoforina A y C

[1]Expresión en citoplasma.
[2]CD79a se puede expresar en LAL-T.

Genética

La citogenética ofrece una valiosa información desde el punto de vista etiológico, pronóstico y terapéutico. La nomenclatura MIC recoge esta información y consigna el tipo morfológico FAB seguido del signo barra (/) y la anomalía cromosómica específica entre paréntesis [ejemplo: M2/t(8;21)][13]. Actualmente, la clasificación MIC ha sido prácticamente sustituida por la clasificación de la OMS[1], cuyas bases son muy similares.

Para el análisis citogenético se prefiere el estudio de la médula ósea al de la sangre periférica; se utilizan cultivos cortos, de 24 a 48 horas, e identificación cromosómica con técnica de bandeo, y debe examinarse un número suficiente de metafases (de 20 a 30)[2]. En la tabla 19.6 se muestran las alteraciones citogenéticas más frecuentes[17], y en la tabla 19.7, la implicación de las anomalías genéticas más habituales. Estos estudios se complementan con técnicas de hibridación *in situ* fluorescente (FISH) (v. Capítulo 3). La gran mayoría de las alteraciones típicas de la LAM son reordenamientos equilibrados o balanceados, y de muchos de ellos se conoce su equivalente molecular o gen de fusión, que puede ser detectado mediante la técnica de la transcriptasa inversa-reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) de manera rutinaria. Las alteraciones numéricas o no balanceadas se analizan por citogenética convencional y por FISH.

Recientemente, la OMS ha propuesto una nueva clasificación de las leucemias agudas[1]. Esta clasificación mantiene gran parte de la clasificación del FAB e intenta definir entidades biológicamente homogéneas y que tengan relevancia clínica. Para ello, la genética se utiliza de manera explícita junto con datos morfológicos, citoquímicos y clínicos. En esta clasificación se reconocen las leucemias en mieloides o linfoides según el linaje de los blastos. Las leucemias agudas mieloides se agrupan en cinco grandes categorías: 1) leucemias agudas mieloides con anomalías genéticas recurrentes; 2) leucemias agudas mieloides con displasia multilínea; 3) leucemias agudas mieloides relacionadas con la terapéutica; 4) leucemias agudas mieloides sin características de las categorías anteriores, que incluye la mayoría de variedades del grupo FAB (M0, M1, M2, M4, M5, M6 y M7), la leucemia aguda de basófilos, la panmielosis aguda con mielofibrosis y el sarcoma mieloide, y 5) leucemias agudas de linaje ambiguo, que incluyen la leucemia aguda no diferenciada, las leucemias agudas bilineales y las leucemias agudas bifenotípicas (tabla 19.8).

TABLA 19.5

Marcadores inmunofenotípicos en los subtipos de la leucemia mieloide aguda según la clasificación FAB

Marcadores	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
MPO	– o +	+	+	++	+	– o +	+	–
HLA-DR	+	+	+	– o +	+	+	+	+
CD11b	–	– o +	+	– o +	+	+	– o +	– o +
CD13	– o +	+	+	+	+	+	+	+
CD14	–	–	–	–	+	+	–	–
CD15	–	– o +	+	– o +	+	– o +	– o +	–
CD33	– o +	+	+	+	+	+	+	–
CD41, CD61	–	–	–	–	–	–	–	+
Glicoforina A y C	–	–	–	–	–	–	+	–
TdT	– o +	+	–	–	–	– o +	–	–
CD117	+	+	+	+	+	– o +	+	–
CD2	– o +	–	–	+	– o +	–	–	–
CD7	– o +	–	–	–	–	–	–	–
CD19	+		+	–	–	–	–	–
CD34	+	+	– o +	– o +	+	– o +	–	– o +

FAB: Franco-Americano-Británico (Grupo Cooperativo).

TABLA 19.6

Alteraciones cromosómicas más frecuentes en las leucemias agudas mieloides

M1	5q– o –5; 7q- o –7; –17	
	Ph'	
	Inv(3)(q213q26) o t(3;V)(q21 o q26;V)	
	+21	
	+8	
M2	t(8;21)(q22;q22)	
	5q– o –5; 7q– o –7	
	Inv(3)(q213q26) o t(3;V)(q21 o q26;V)	
	t(6;9)(p22;q34) asociado a basofilia en médula ósea	
	Ph'	
	+8	
M3	t(15;17)(q22;q21)	
	i(17)(q10)	
M4	5q– o –5; 7q– o –7	
	inv(16)(p13q22) o 16q– o t(16q22), asociado con eosinofilia en médula ósea	
	t(6;9)(p22;q34)	
	t(V;11)(V;q23)	
	+8	
	Ph'	
	+4	
M5	t(9;11)(p22;q23)	M5a
	t(V;11)(V;q23)	M5a
	t(8;16)(p11;p13)	asociado con fagocitosis
	+8	
M6	5q– o –5; 7q– o –7	
	t(3;V)(q21 o q26;V)	
	dup(1)	
	+8	
M7	Inv(3)(q213q26) o t(3;V)(q21 o q26;V)	
	+8	
	+21	

Uno de los datos más relevantes de la clasificación de la OMS es que para establecer el diagnóstico de leucemia, el porcentaje de blastos de sangre periférica o de médula debe ser de más del 20%, a diferencia del 30% utilizado en la clasificación de la FAB. Este cambio implica la anulación del síndrome mielodisplásico definido como anemia refractaria con exceso de blastos en transformación. En el diagnóstico de las leucemias monocíticas, la OMS considera a los promonocitos atípicos como blastos. También pone énfasis en que, en ciertas ocasiones, puede establecerse el diagnóstico de leucemia cuando se detectan alteraciones citogenéticas como la t(8;21)(q22;q22), la inv(16)(p13q22), o la t(16;16)(p13q22) o del(16)(p13q22), la t(15;17)(q22;q12) y anomalías en 11q23, aunque el número de blastos no supere el 20%. En esta clasificación, la leucemia promielocítica se incluye en el grupo de leucemias con alteraciones genéticas recurrentes. Cuando una leucemia no presenta las características genéticas, morfológicas o clínicas de los grupos definidos, se clasifica como «leucemia aguda mieloide sin características de las categorías anteriores», que incluye la mayoría de variedades del grupo FAB con modificaciones. Estas modificaciones se refieren a: la exclusión de la leucemia aguda promielocítica, la definición de una leucemia eritroide pura que se diferencia de la eritroleucemia, la inclusión de la leucemia a basófilos y de la panmielosis aguda con mielofibrosis y sarcoma mieloide.

Las anomalías citogenéticas específicas son, en su mayoría, translocaciones que originan genes de fusión que codifican proteínas quiméricas con capacidad oncogénica. Incluyen cuatro tipos de translocaciones con relevancia clínica e implicaciones terapéuticas. Estas alteraciones permiten identificar pacientes con pronóstico favorable, intermedio y desfavorable[16-17]. Es conocido que los pacientes con LAM con presencia del gen de fusión *PML/RAR* alfa se benefician del tratamiento con ácido transretinoico. Los pacientes con LAM con reordenamiento del gen *AML1*(CBFα/ETO) o con (CBFβ/MYH11) tienen mejor pronóstico que el resto de LAM, mientras que las LAM con reordenamiento del gen *MLL*, situado en 11q23, tienen un pronóstico intermedio-desfavorable. En este grupo de leucemias cabe señalar que, a pesar de que las características morfológicas o la citogenética convencional pueden orientar el diagnóstico, es necesario corroborar la presencia de reordenamiento genético, mediante técnicas moleculares (v. Capítulo 3). Los genes de fusión condicionan el tipo de tratamiento, y su monitorización es indispensable para el seguimiento de la enfermedad residual[17]. Se han descrito otras alteraciones genéticas con implicación pronóstica, como la mutación del gen *FLT3*, miembro del receptor de clase III de las tirosincinasas y localizado en el cromosoma 13q. Esta lesión genética es la más frecuente en la LAM, y se relaciona con un pronóstico desfavorable[19,20]. Por otra parte, existen reordenamientos crípticos que sólo son detectables por técnicas de biología molecular; mediante estas técnicas se puede evaluar el significado pronóstico de la expresión cuantitativa de los transcritos de fusión[21] (v. Capítulo 3).

La clasificación de la OMS, a pesar de presentar pequeñas dificultades, ha tenido una amplia aceptación y se ha convertido en una nueva herramienta en el estudio de las leucemias agudas. Con todo, la clasificación del FAB, que ha gozado de una gran difusión y aceptación en el ámbito hematológico internacional, sigue siendo ampliamente utilizada.

En el momento de la evaluación de una leucemia aguda, la distinción multimetodológica inicial entre una leucemia aguda linfoblástica y una leucemia aguda mieloblástica es fundamental, ya que la estrategia terapéutica y el pronóstico varían considerablemente.

A continuación, se describen los distintos tipos de leucemias agudas mieloblásticas, siguiendo la clasificación de la OMS[1], que implica la valoración conjunta de la morfología, citoquímica, marcadores inmunológicos y genéticos (tabla 19.8).

Leucemias agudas mieloides con alteraciones genéticas recurrentes

Este grupo se caracteriza por la presencia de alteraciones genéticas recurrentes, mayoritariamente translocaciones balanceadas y con frecuencia con un alto nivel de remisión completa y pronóstico favorable. Algunas de las translocaciones se detectan por RT-PCR, que tiene una mayor sensibilidad que la citogenética convencional.

Las alteraciones citogenéticas-moleculares se refieren a: t(8;21)(q22;q22); (AML1/ETO), la inv(16) (p13q22) y su variante t(16;16)(p13;q22); (CBFα/MYH11), la t(15;17)(q22;q11-12) y variantes PML/RAR alfa, y alteraciones 11q23 (MLL)[1].

Leucemia aguda mieloide con t(8;21)(q22;q22)

Las características morfológicas son tan especiales que puede predecirse con bastante fiabilidad la presencia o ausencia de dicha translocación. Los blastos que predominan son de gran

TABLA 19.7

Alteraciones genéticas balanceadas en LMA

Alteración cromosómica	Genes involucrados
t(8;21)(q22;q22)	*AML1-ETO*
t(6;9)(p23;q34)	*DEK-NUP214*
inv(3)/t(3;3)(q21;q26)	*Riboforina-EVI1*
t(3;5)(q25;q34)	*MLF1-NPM1*
t(15;17)(q22;q21)	*PML-RARα*
t(11;17)(q23;q21)	*PLZF- RARα*
t(11;17)(q13;q21)	*NuMA- RARα*
t(5;17)(q35;q21)	*NPM- RARα*
inv(16)/t(16;16)(p13;q22)	*CBFβ-MYH11*
t(V;11q23)	*v-MLL*
t(6;11)(q27;q23)	*MLL-AF6*
t(9;11)(p22;q23)	*MLL-AF9*
t(11;19)(p13;q23)	*MLL-ELL,MLL-ENL*
t(8;16)(p11;p13)	*MOZ-CBP*
inv(8)(p11q13)	*MOZ-TIF2*
t(8;22)(p11;p13)	*MOZ-p3000*
t(12;15)(p13;q25)	*TEL-TRKC*
t(3;21)(q26;q22)	*AML1-EVI1*
t(V;11)(V;p15)	*v-NUP98*
t(7;11)(p13;p15)	*HOXA9-NUP98*
t(1;11)(q23;p15)	*NUP98-PMX1*

Alteraciones genéticas no balanceadas en LMA

Monosomías	Trisomías	Deleciones	Alteraciones con pérdida y ganancia simultánea de material
–5	+4	del(5q)	i(1)(q10)
–7	+8	del(7q)	i(11)(q10)
–20	+11	del(12p)	i(14)(q10)
–21	+13	del(13)(q12q14)	i(17)(q10)
–22	+14	del(20)(q13)	i(21)(q10)
–X,Y	+21		i(X)(q13)

tamaño, y presentan una notable irregularidad nuclear, con abundante citoplasma que contiene numerosos gránulos azurófilos, a veces de gran tamaño (seudo Chediak Higashi); tanto en los blastos como en los neutrófilos pueden observarse bastones de Auer únicos, muy largos y de extremos afilados (fig. 19.2). Los blastos de gran tamaño suelen coexistir con otros más pequeños e inmaduros, de aspecto linfoide[22]. En la médula ósea se observan elementos neutrófilos en todos los estadios madurativos, con rasgos de disgranulopoyesis. Los neutrófilos maduros pueden presentar un citoplasma rosa-salmón y un borde basófilo[23]. Puede existir un aumento de eosinófilos y basófilos inmaduros, sin que presenten dismorfias destacables. La serie monocítica suele estar disminuida, y los megacariocitos y eritroblastos suelen ser normales. Este tipo de leucemia suele presentar los rasgos morfológicos característicos de la M2 del FAB, aunque en raras ocasiones también muestra características de M1 o de M5[24].

En el contexto de hemopatía maligna con t(8;21) existen casos con escaso número de blastos en médula ósea y mielodisplasia evidente, que deberían clasificarse según el grupo FAB, como una anemia refractaria con exceso de blastos (AREB), pero que evolucionan rápidamente a la forma habitual de leucemia aguda tipo M2. En estas circunstancias, en la clasificación de la OMS se aconseja tipificar como leucemia aguda y no como anemia refractaria con exceso de blastos[1]. La mayoría de estos casos se corresponden con las leucemias agudas mieloides denominadas *LAM-M2 oligoblástica*[25] *con t(8;21).*

Citoquímica. La mayoría de los enfermos presentan una leucemia con diferenciación granulocítica tipo M2 del FAB; en estos casos, las células blásticas presentan intensa actividad de mieloperoxidasa y positividad con el negro Sudán B, que suele visualizarse en forma de mazacotes. En los casos con diferenciación monocítica (M5), los monoblastos y promonocitos suelen presentar reactividad para las esterasas no específicas que, al incubarse con fluoruro sódico, se inhiben.

Inmunofenotipo. Los blastos son CD34+, HLA-DR+, CD13+, CD15+, en tanto que el CD33 suele ser negativo o débilmente positivo, y con frecuencia expresan el marcador CD19. La coexpresión de CD19 y de CD56 sólo se ha registrado en la LAM con t(8;21). La expresión de CD56 se ha relacionado con una mayor incidencia de afectación del

TABLA 19.8

Clasificación de la leucemia aguda mieloblástica según la OMS

Leucemias agudas mieloides con alteraciones genéticas recurrentes
Leucemia aguda mieloide con t(8;21)(q22;q22);(AML1/ETO)
Leucemia aguda mieloide con eosinófilos anormales en médula ósea e inv(16)(p13q22) o t(16;16)(p13;q22); (CBFβ/MYH11)
Leucemia aguda promielocítica con t(15;17)(q22;q21)(PML/RARa) y variantes
Leucemia aguda mieloide con alteraciones en 11q23 (MLL)

Leucemias agudas mieloides con displasia multilínea
Precedidas por un síndrome mielodisplásico o por un síndrome mieloproliferativo crónico/mielodisplásico
Sin antecedentes de un síndrome mielodisplásico

Leucemias agudas mieloides relacionadas con la terapia
Relacionadas con agentes alquilantes
Relacionadas con inhibidores de la topoisomerasa II
Otros tipos

Leucemias agudas mieloides sin características de las categorías anteriores
Leucemia aguda mieloide mínimamente diferenciada
Leucemia aguda mieloide sin maduración
Leucemia aguda mieloide con maduración
Leucemia aguda mielomonocítica
Leucemia aguda monoblástica y monocítica
Leucemia aguda eritroide
Leucemia aguda megacarioblástica
Leucemia aguda de basófilos
Panmielosis aguda con mielofibrosis
Sarcoma mieloide

Leucemias agudas de linaje ambiguo
Leucemia aguda indiferenciada
Leucemia aguda bilineal
Leucemia aguda bifenotípica

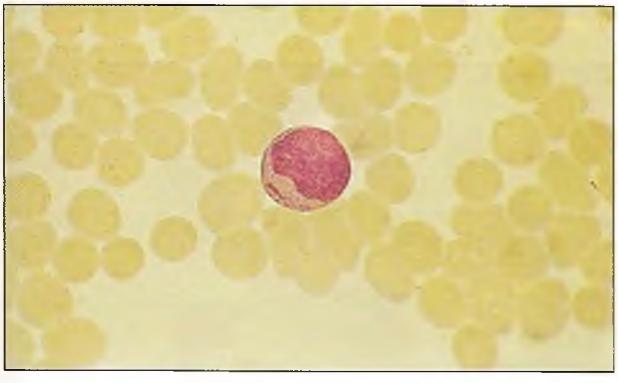


Figura 19.2. Mieloblasto que contiene un bastón de Auer (tinción de May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

SNC y con el desarrollo de un sarcoma granulocítico (cloroma), que se comentará posteriormente. Para algunos autores, la expresión de CD19 en más del 10% de los blastos y de CD34 en casi el 40% de los mismos es altamente predictiva de la anomalía citogenética t(8;21)(q22;q22)[13,15,26].

Genética. La t(8;21)(q22;q22) produce la fusión de dos genes, el *AML1* en el cromosoma 21, y el gen *ETO* en el cromosoma 8, con la formación de un gen quimérico AML1/ETO en el cromosoma 8 derivativo, que puede estar reordenado sin evidencia citogenética de la t(8;21). También se ha descrito la translocación variante t(12;21)(p13;q22). La alteración citogenética que con mayor frecuencia se asocia a la t(8;21) es la pérdida del cromosoma sexual y la deleción 9q, con células blásticas intensamente vacuolizadas. Cabe recordar que la t(8;21)(q22;q22) en la LAM-M2 se ha hallado tanto en células mieloides como en linfocitos T, dato a tener en cuenta cuando el paciente está en remisión completa y persiste la t(8;21)(q22;q22), y ésta probablemente se debe a la presencia de linfocitos T con vida media larga.

Los pacientes LAM-M2 y t(8;21) presentan un alto porcentaje de RC con el tratamiento de inducción. Es más frecuente en los niños que en los adultos. Suele cursar con esplenomegalia y buena respuesta a la terapéutica, con largas remisiones.

Leucemia aguda mieloide con inv(16)(p13q22), o t(16;16)(p13q22) o del(16)(p13q22)

Morfología. La mayoría de las leucemias agudas con inv(16) se asocian con la variante leucémica M4 con eosinofilia del FAB, aunque en ocasiones no van acompañadas de eosinofilia y presentan únicamente diferenciación neutrófila o monocítica. Al igual que ocurre con la t(8;21), los casos en los que la inv (16) se acompaña de un porcentaje de blastos de menos del 20% se deberían considerar como leucemia aguda[1].

Presenta las características morfológicas de una leucemia mielomonocítica, y cursa con eosinofilia medular atípica, habitualmente sin eosinofilia periférica. Los blastos en proporción superior al 20% de la totalidad celular van acompañados de un componente granulocítico y otro monocítico en distintos grados de maduración, y en una proporción de más del 20% cada uno de ellos. En ocasiones, en sangre periférica se observa una monocitosis de más de 5×10^9/L. Se incluye como blastos a los mieloblastos, monoblastos y promonocitos, y la suma de todos ellos debe ser superior al 20%. Los blastos pueden presentar bastones de Auer. Los eosinófilos atípicos presentan unos gránulos que, a diferencia de los normales, suelen ser cloroacetato-esterasa positivos y PAS positivos; por otra parte, el examen ultraestructural denota frecuentes bolsillos nucleares y ausencia del cuerpo interno cristaloide de los gránulos eosinófilos. Con frecuencia, se hallan las denominadas células «híbridas», cuyo núcleo no segmentado ofrece un aspecto monocítico, pero con gránulos eosinófilos patológicos en su citoplasma. Un dato destacado es la coexistencia de gránulos eosinófilos y preeosinófilos, de apetencia tintorial basófila en todos los estadios madurativos semimaduros de la eosinofilopoyesis[22].

Citoquímica. Debe contabilizarse un mínimo del 3% de blastos mieloperoxidasa positivos. Los monoblastos y promonocitos suelen presentar reactividad para las esterasas no específicas, con inhibición con fluoruro sódico. Los eosinófilos leucémicos, a diferencia de los normales, son cloroacetatoesterasa positivos y presentan PAS positividad intergranular.

Inmunofenotipo. Esta variedad, además de los marcadores mieloides habituales como CD13, CD33 y MPO, pueden presentar marcadores monocíticos como CD14, CD4, CD11b, CD11c, CD64, CD36 y lisozima. Ninguno de estos marcadores son específicos de esta variante leucémica. La coexpresión de marcadores mieloides con CD2 se halla con frecuencia en las leucemias con inv(16), aunque no es específico para su diagnóstico. De forma característica, se detecta sobreexpresión de MPO tanto en los mieloblastos CD34 como en los monoblastos y promonocitos[14,15].

Genética. En esta variante existe una alteración citogenética que implica al brazo largo del cromosoma 16[27-30]. Se produce una inversión entre el brazo largo y el brazo corto del cromosoma 16 o una translocación balanceada entre los dos cromosomas 16 homólogos. Durante la inversión pericéntrica del cromosoma 16, inv(16)(p13q22), la t(16;16)(p13;q22) y la del(16)(q22), se produce una fusión del gen *Core Binding Factor β (CBFβ)* ubicado en 16q22 con el gen *smooth muscle myosin heavy chain gene (MYH11)* ubicado en 16p13. El gen quimérico resultante es el *CBFβ/MYH11*[29]. Estas alteraciones son muy frecuentes, aunque a veces difíciles de detectar por citogenética convencional. El gen quimérico *CBFβ/MYH11*[29], puede observarse sin que exista morfología de LAM4Eo, por lo que se recomienda investigar la presencia de este gen híbrido en toda leucemia aguda mieloide. El gen de fusión *CBFβ/MYH11* se relaciona, con diferenciación eosinófila anómala[30]. Mediante técnicas de hibridación *in situ*, se ha demostrado que los eosinófilos forman parte de la clona leucémica[31]. Las LAM4 que se acompañan de esta alteración genética presentan pronóstico favorable en comparación con las M4 que no la presentan.

Leucemia aguda promielocítica LAM con t(15;17); (q22;q12)(PML/RARA) y variantes

La leucemia aguda promielocítica (LAP) o M3 de la clasificación FAB se caracteriza por la presencia de promielocitos patológicos, de los que existen distintos tipos.

La clasificación de la OMS distingue dos grupos de LAP: un grupo con la t(15;17)(q22;q12)(PML/RARA), que incluye la variante clásica hipergranular y la variente hipogranular, y otro grupo con translocaciones variantes[32], con implicación del gen *RARA* (tabla 19.9).

Leucemia aguda promielocítica LAM con t(15;17) (q22;q12)(PML/RARA)

Su frecuencia entre las leucemias mieloides agudas es del 5-10%. Generalmente, se presenta de forma explosiva, como una leucemia aguda *de novo*, pero también se han descrito algunos casos secundarios, sobre todo a tratamientos con fármacos, que inhiben la enzima topoisomerasa II, y cuya evolución no difiere de la LAM-M3 *de novo*[33]. Es muy rara en los niños, y suele ser más frecuente en sujetos adultos en los que la incidencia de hipofibrinogenemia es menor que en aquellos.

Este subtipo de leucemia incluye dos variantes morfológicas principales, una hipergranular y otra hipogranular. Ambas difieren en su presentación clínica, aspecto morfológico y pronóstico[34]. Además, existen la LAP con gránulos basófilos o con gránulos eosinófilos, la LAP hiperbasófila[35] y los tipos más próximos al mieloblasto (M2 y M1-like), variantes morfológicas no consideradas en esta clasificación de la OMS como tales, y que se describirán en este apartado (tabla 19.9).

TABLA 19.9

Clasificación citogenética y variantes morfológicas de la LAP

Variantes citogenéticas	Variantes morfológicas
LAP con t(15;17) (q22;q21)(PML/RARAα)	Clásica hipergranular Hipogranular M3/M3 variante Con gránulos basófilos o eosinófilos Hiperbasofilia Tipo mieloblástico M2-like y M1-like
LAP variantes con implicación del gen RARAα t(11;17)(q23;q21)(PLZF/RARα) t(11;17)(q13;q21)(NuMA/RARα) t(5;17)(q23;q21)(NPM/RARα)	M3«r» blastos de núcleo regular y redondo Sin morfología característica Promielocitos hiper/hipogranulados sin bastones de Auer

LAP de morfología típica o hipergranular. Catalogada de M3 en la clasificación del FAB, es la más frecuente y de fácil diagnóstico por morfología (fig. 19.3). Suele tener una presentación leucopénica, y se caracteriza por la presencia de blastos hipergranulares y cursa con accidentes hemorrágicos muy graves por frecuente coagulación intravascular diseminada (CID). Los promielocitos patológicos presentan una granulación citoplásmica muy evidente, intensamente azurófila y muy abundante, que incluso llega a ocultar la basofilia citoplasmática. En ocasiones, los gránulos azurófilos están mal individualizados y se disponen formando una amplia zona globulosa azurófila. Una proporción variable de estos promielocitos contienen inclusiones citoplásmicas cristalinas tipo astillas (*fagot cells*), que suelen disponerse en cúmulos, manojos o gavillas y que, citoquímicamente, se comportan como bastones de Auer, de los que difieren, sin embargo, en su ultraestructura. Las astillas pueden aparecer aisladas en la célula o coexistir con gránulos azurófilos. Dichas estructuras son bastante específicas de este tipo de leucemia. En oca-

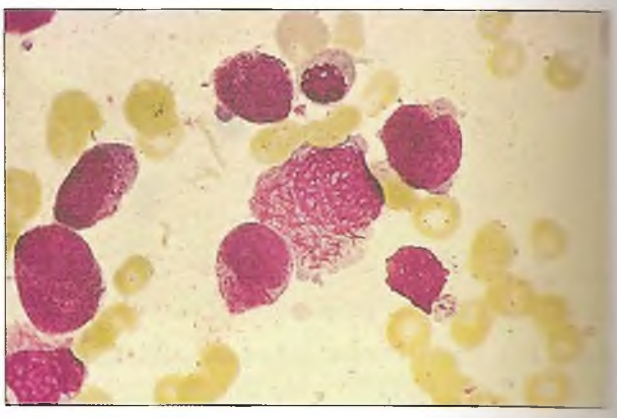


Figura 19.3. Leucemia promielocítica aguda, tipo M3 de la clasificación FAB. Obsérvense dos promielocitos leucémicos que contienen abundantes astillas (tinción de May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

nes, la granulación puede ser muy imprecisa, tipo Chediak. Los núcleos de los promielocitos leucémicos, en caso de ser visibles, presentan escotaduras, lobulaciones e incluso dos segmentos nucleares, y pueden, asimismo, contener uno o más nucléolos. Estas células son muy frágiles al traumatismo mecánico de la extensión, por lo que se rompen fácilmente, y así se observan numerosos gránulos y astillas dispersos alrededor del resto celular. Con frecuencia, se observa el desprendimiento de mamelones citoplasmáticos, fenómeno denominado *clasmatosis*.

Después del tratamiento con ácido retinoico, puede aparecer una basofilia reactiva, que no participa del fenómeno leucémico, como se ha podido demostrar por técnicas de hibridación *in situ*. Asimismo, pueden aparecer bastones de Auer en algunos polinucleares que han logrado madurar por acción del ácido retinoico y que presentan ciertas diferencias, como déficit de granulación secundaria[36]. En la médula ósea puede existir fibrosis colágena por acción del ácido retinoico, que es reversible, pero que puede hacer fracasar la punción aspirativa[37].

La promielocitosis de la forma M3 hipergranular obliga al diagnóstico diferencial de la agranulocitosis en fase de recuperación, donde existe una población neutrófila mayoritaria de morfología normal.

LAP de morfología hipogranular o microgranular, o M3 variante en la clasificación del FAB. En esta variedad, al contrario de la M3 hipergranular, suele existir leucocitosis. Su incidencia se cifra en el 25% de todas las leucemias promielocíticas, y su pronóstico suele ser peor que el de la forma clásica. Los promielocitos leucémicos se caracterizan por la escasez de gránulos observables a nivel óptico, así como por la presencia de un núcleo de configuración monocitoide, o con imagen en hachazo, muy característica. Con todo, siempre resta un pequeño porcentaje de células hipergranulares y con astillas, que deben perseguirse con perseverancia para evitar la confusión con una leucemia monocítica. En determinados casos, los promielocitos en sangre adoptan el aspecto de la forma variante, en tanto que los de la médula ósea son similares a los hipergranulares. A estos casos se les ha asignado la nomenclatura de *M3/M3 variante* (tabla 19.9).

Otras variantes morfológicas de LAP. Existen otras formas de presentación de LAP, como la *LAP con diferenciación basófila*, la *LAP hiperbasófila*, la *LAP tipo M2* y la *LAP tipo M1*, entre otras, que en la clasificación de la OMS[1] se incluyen como una única entidad (LAP) dentro de las leucemias agudas mieloides con alteración citogenética recurrente, sin considerar el número de blastos ni su morfología. El requisito para ser incluida en esta categoría es la demostración del reordenamiento *PML/RARA* (tabla 19.9).

LAP con gránulos basófilos o con gránulos eosinófilos. Son variedades extremadamente raras que pueden acompañarse de CID agresiva. En la forma basófila, los blastos son de núcleo plegado, citoplasma con gránulos gruesos basófilos y metacromáticos con el azul de toluidina. Suelen presentar protuberancias citoplasmáticas. Estas células son minoritarias (< 10%), aunque en ocasiones pueden ser numerosas. Las astillas son poco frecuentes, y los blastos, a diferencia de las otras variedades, presentan actividad de mieloperoxidasa débil y positividad para las esterasas. El diagnóstico diferencial debe hacerse con la leucemia M2 con basofilia, la rara leucemia aguda a basófilos y la todavía más infrecuente leucemia aguda a mastocitos, ambas mieloperoxidasa negativas[38]. La variante con gránulos eosinófilos se caracteriza por la presencia de blastos con gránulos eosinófilos en el citoplasma[39].

LAP hiperbasófila. En esta variedad, los blastos tienen un citoplasma hiperbasófilo, con escasez o ausencia de gránulos y protuberancias citoplásmicas que simulan megacarioblastos[35]. Esta morfología puede observarse, sobre todo, en las recaídas de leucemias promielocíticas típicas, tratadas con ácido retinoico.

LAP «tipo M2» y «tipo M1». Neame et al[40] han descrito dos variantes adicionales; en una, la celularidad patológica está constituida por el promielocito y escasos mieloblastos, y la designan como *variante «tipo M2»*; y en la otra, predominan las células blásticas con unos pocos promielocitos muy precoces, y la etiquetan de *variante «tipo M1»*.

Otro grupo recientemente descrito es el de las *LAM-M3 secundarias* a tratamiento quimioterápico de tumores sólidos, de aparición precoz y ausencia de fase preleucémica displásica, con una evolución que no difiere de la LAM-M3 *de novo*.

Citoquímica. En LAM-M3, la gran intensidad de la reacción de la mieloperoxidasa es un dato diagnóstico de gran valor. Presentan, además, positividad intensa para el negro Sudán y el cloracetato esterasa. En algunos casos, los blastos pueden presentar una reacción intensa a la alfa-naftil-acetato esterasa, con sensibilidad al fluoruro sódico, al igual que ocurre con los blastos monocíticos.

Inmunofenotipo. En todas las variantes, tanto los promielocitos hipergranulares como los hipogranulares poseen un fenotipo que los diferencia claramente de las otras variedades de leucemias mieloblásticas. Suelen ser HLA-DR y CD34 negativos y CD33, CD13, y CD9 positivos. El CD15 junto con el CD34 presentan un patrón disociado característico. El CD68 y CD14 son negativos. Sin embargo, el 25% de casos son HLA-DR positivos, el 23%, CD19 positivos, y el 28% de casos, CD34 positivos; además, pueden coexpresar CD34 con CD2, especialmente la forma hipogranular[14,15,41]. Suele tener una baja expresión del gen *MDR 1*, lo que contribuye a la eficacia terapéutica.

Con la reacción de la FAAFA y utilizando el anticuerpo monoclonal (PG-M3)[42] que detecta la proteína PML y reconoce el gen de fusión *PML/RARA*, se observa, en los promielocitos que presentan la t(15;17), un precipitado puntiforme múltiple en el núcleo muy característico, en tanto que las células normales sólo ofrecen un número muy reducido de señales. Esta técnica permite, en un par de horas, saber si existe la t(15;17). Lógicamente, no aparece la reacción en las variantes t(11;17) o t(5;17).

Genética. En la LAP se ha identificado una alteración citogenética característica en el 90% de casos: la t(15;17)(q22;q12) (PML/RARA)[43]. La translocación fusiona el gen *promyelocytic leukemia* (PML), localizado en el brazo largo del cromosoma 15, con el gen del receptor alfa del ácido retinoico (RARα), situado en el brazo largo del cromosoma 17. Como consecuencia, se produce un RNAm que codifi-

ca proteínas quiméricas. Precisamente, la presencia del receptor alfa del ácido retinoico es la causa de que el ácido holotrans-retinoico, administrado terapéuticamente, sea capaz de inducir la diferenciación de los promielocitos leucémicos, y así se explica el gran número de RC conseguidas por este fármaco. Estudios recientes han puesto de manifiesto que existen al menos tres puntos de rotura (bcr) en el brazo largo del cromosoma 15; el bcr1 o largo, el bcr2 variable y el bcr3 o corto. El bcr1 está asociado con mejor pronóstico que el bcr2 y, a veces, que el bcr3[44,45].

Es importante conocer exactamente cuáles son los puntos de rotura, ya que se han descrito t(15;17) no asociadas a leucemias promielocíticas[46]. La alteración cromosómica adicional más frecuente se refiere a la trisomía 8, y le confiere un peor pronóstico[47]. En la variante con granulación basófila, junto con la t(15;17), suelen existir alteraciones cromosómicas adicionales como la 12p13, descrita también en la M2 con diferenciación basófila, por lo que se sugiere que en la M3 existen blastos híbridos mieloides/basófilos[34].

Clínicamente, la LAP se asocia con una diátesis hemorrágica atribuida a la CID que resulta de la liberación de sustancias procoagulantes, contenidas en los gránulos azurófilos de los promielocitos anormales. Responden favorablemente al tratamiento con el ácido holo-trans-retinoico, que induce la diferenciación de los promielocitos leucémicos, alcanzando un mayor número de RC respecto del resto de LAM y de larga duración, lo que ha determinado que se considere una LAM de mejor pronóstico.

El reconocimiento de una LAM-M3 es importante, ya que al cursar con coagulación intravascular diseminada, que en muchas ocasiones es el motivo de muerte por sangrado incontrolable, requiere una intervención terapéutica urgente. Suele afectar a individuos jóvenes, con una mediana de edad de 35 años, y en el 80% de casos la cifra inicial de leucocitos es baja. La fiebre sin evidencia clínica de infección y la ausencia de organomegalias son otros hechos diferenciales. En la variante microgranular suele haber más leucocitosis que en la forma hipergranular, y puede alcanzar hasta 200 × 10^9/L.

Variantes de la t(15;17) con implicación del gen *RARA*. Se han descrito tres translocaciones variantes en las que está implicado el gen *RARA*: la t(11;17)(q23;q21), la t(11;17)(q13;q21) y la t(5;17)(q32;q21) (tabla 19.9):

1. La t(11;17)(q23;q21) (PLZF/RARA), en la que el gen *promyelocytic leukemia zinc finger* (*PLZF*) localizado en el cromosoma 11 se fusiona con el gen *RARA* localizado en el cromosoma 17. Es poco frecuente y presenta una morfología característica. Los blastos son de núcleo redondo y regular, con algunos gránulos y, en general, sin bastones de Auer. Suelen observarse neutrófilos con hiposegmentación tipo Pelger-Hüet. Los blastos presentan una reacción intensa a la mieloperoxidasa y con frecuencia expresan el antígeno CD56. Esta variante no responde al ATRA, y se ha denominado *M3«r»*[48].
2. La t(11;17)(q13;q21) (NuMA/RARA), en la que el gen asociado a la matriz nuclear (NuMA) se fusiona con el gen *RARA*, localizado en el cromosoma 17. Este tipo de leucemia presenta una morfología similar a la de la LAP, y es sensible al ATRA[48].
3. La t(5;17)(q32;q12) (NPM/RARA), en la que el gen nucleofosmina (NPM) localizado en el cromosoma 5 se transloca con el gen *RARA* localizado en el cromosoma 17. Es poco frecuente, y es sensible al ATRA; se caracteriza por presentar promielocitos hipergranulados que van acompañados de una pequeña población de promielocitos hipogranulados; ambos promielocitos no presentan bastones de Auer[48].

Leucemia aguda mieloide asociada a trastornos de 11q23(MLL)

En el 6% de las LAM se encuentran alteraciones de 11q23(MLL). Se registran a cualquier edad, aunque es más frecuente en los niños. Clínicamente, se distinguen dos subtipos; uno se refiere a la LAM de la infancia, y el otro, a las leucemias relacionadas con terapia y que acontecen la mayoría de las veces después de tratamiento con inhibidores de la DNA topoisomerasa II.

Morfología y citoquímica. Suele asociarse con leucemias monoblásticas y mielomonocíticas, aunque ocasionalmente también puede hacerlo con leucemias mieloblásticas con o sin maduración.

Los monoblastos son grandes, con abundante citoplasma de basofilia variable, de moderada a intensa, y en ocasiones muestran seudópodos. Pueden presentar granulación azurófila fina y pequeñas vacuolas. El núcleo suele ser regular, de cromatina reticulada, con uno o más nucléolos evidentes. Los promonocitos tienen un núcleo más irregular con finas incisuras, el citoplasma es menos basófilo y la granulación, algo más gruesa.

Tanto los monoblastos como los promonocitos presentan una fuerte reacción a las esterasas inespecíficas, y son negativos o débilmente positivos a la mieloperoxidasa.

Inmunofenotipo. No existe un inmunofenotipo característico de esta entidad con alteraciones en 11q23. Presentan marcadores de línea mieloide como CD13 y CD33. Los que presentan morfología monoblástica suelen carecer de CD34 y muestran marcadores de monoblastos como CD14, CD4, CD11b, CD11c, CD64, CD36 y lisozima.

Genética. En 11q23 se encuentra el gen MLL (*myeloid lymphoid leukemia*). Es un gen regulador del desarrollo celular, y está alterado en leucemias con translocaciones que muestran una anomalía de la banda 11q23. Este gen está implicado en un gran número de translocaciones con diferentes parejas de cromosomas. En los niños las translocaciones más frecuentes son t(9;11)(p21;q23) y la t(11;19)(q23;p13.1). Otras translocaciones implican a más de 50 parejas de cromosomas.

Los pacientes con leucemia aguda mieloide asociada con alteraciones de 11q23 suelen presentar una supervivencia intermedia[1,49-52].

Leucemia aguda mieloide con displasia multilineal

Este tipo de leucemia se caracteriza por la presencia de más del 20% de blastos en la médula ósea o en la sangre periférica, y displasia en dos o más líneas celulares, generalmente incluyendo megacariocitos. La displasia debe estar presente en más del 50% de los elementos, y como mínimo, en dos líneas celulares, y debe ser observada previamente al tratamiento. Es frecuente registrar una marcada pancitopenia. Estas leucemias pueden aparecer *de novo* o estar precedidas

por un síndrome mielodisplásico o por un síndrome mieloproliferativo crónico/mielodisplásico.

La mielodisplasia trilínea al inicio del diagnóstico de una leucemia aguda se presenta en el 12% de casos[53]. Estas leucemias pueden remitir, y recaer en forma de un síndrome mielodisplásico con exceso de blastos[54].

Morfología y citoquímica. La displasia debe afectar a dos o más líneas celulares, y debe estar presente en más del 50% de los elementos. Los rasgos de disgranulopoyesis más frecuentes son la hipogranulación citoplasmática e hiposegmentación nuclear, tipo anomalía de Pelger-Huët, o núcleos con segmentación anómala. Estas dismorfias, en ocasiones son más manifiestas en la sangre periférica que en la médula ósea. Los rasgos de diseritropoyesis más característicos son los núcleos megaloblásticos, cariorrexis, fragmentación nuclear o multinuclearidad. También se considera diseritropoyesis los sideroblastos en anillo, las vacuolas citoplasmáticas y la PAS positividad. Los rasgos de dismegacariopoyesis incluyen micromegacariocitos, megacariocitos mononucleados o binucleados y megacariocitos con núcleos dispersos.

El diagnóstico diferencial que plantea este tipo de leucemia es con la leucemia mieloblástica aguda con maduración y con la leucemia aguda mieloeritroide, M6 de la FAB. Este último puede resultar a veces muy comprometido, y se aconseja transcribir en el informe esta dificultad.

Inmunofenotipo. Los blastos suelen ser CD34 positivos y expresar marcadores panmieloides. También pueden presentar marcadores aberrantes, como CD56 o CD7, y una incidencia importante en cuanto a la expresión de la glucoproteína de resistencia a multidrogas (MDR-1)[1].

Genética. Se observa una elevada incidencia de alteraciones cariotípicas propias de un síndrome mielodisplásico: –5, 5q–, –7, 7q–, +8, +9, +11, del11, del(12p), –18, +19, del(20q), +21, y con menos frecuencia, translocaciones específicas como inv3(q21;q26), t(3;3)(q21;q26) o ins(3;3) que acompañan a leucemias agudas multilínea y SMD con aumento de producción de plaquetas. La t(3;21)(q21;q26) está relacionada con la terapia o asociada con un brote blástico de una leucemia mieloide crónica, mientras que la t(3:5)(q25;q34) se asocia con mielodisplasia multilínea, pero no con trombocitosis[53].

Leucemias agudas mieloides y síndromes mielodisplásicos relacionados con la terapéutica

Las leucemias agudas mieloides (LAM) y los síndromes mielodisplásicos (SMD) relacionados con la terapéutica son el resultado de la toxicidad producida por agentes químicos y por irradiaciones. Se reconocen dos tipos: los relacionados con agentes alquilantes o con radiaciones y un segundo grupo relacionado con inhibidores de la topoisomerasa II[1,55,56].

Leucemias agudas mieloides (LAM) y síndromes mielodisplásicos (SMD) relacionados con agentes alquilantes

Suelen aparecer tras un período de 5 a 6 años de tratamiento, y están directamente relacionadas con la dosis acumulada del agente alquilante y con la edad del paciente.

Es frecuente que este proceso se presente inicialmente como un SMD en sus diferentes variantes morfológicas, y con citopenias o pancitopenia y rasgos de dishematopoyesis; posteriormente, la mielodisplasia se acentúa y se acompaña de un porcentaje de blastos que no supera el 5%. En ocasiones, el SMD evoluciona a una leucemia aguda, aunque algunos pacientes mueren en la fase de SMD. Una minoría de casos se inician con una leucemia aguda.

Morfología y citoquímica. Tanto si se presentan como una leucemia aguda o como un SMD, suelen estar implicadas todas las líneas mieloides. Las leucemias agudas, en algunos casos, se corresponden con los tipos M1 y pocos con los tipos M4, M5, M6 o M7 de la FAB. La presentación de una M3 es muy rara[33]. En el 15% de casos se observa fibrosis medular moderada o intensa.

Inmunofenotipo. Los blastos, generalmente, expresan CD34 y marcadores panmieloides CD13+, CD33+, y se suelen marcar de forma aberrante con los anticuerpos CD56 y CD7; frecuentemente, expresan un aumento de glucoproteína resistente a las drogas (MDR 1)[1].

Genética. En este tipo de SMD y de LAM, suelen presentarse múltiples alteraciones citogenéticas[55-57] similares a las observadas en LAM con displasia multilínea y en SMD *de novo*. Los cariotipos complejos son las alteraciones más frecuentes en estos tipos de LAM, y los cromosomas que con mayor frecuencia se hallan implicados son el 5 y el 7.

Leucemias agudas mieloides (LAM) y síndromes mielodisplásicos (SMD) relacionados con inhibidores de la topoisomerasa II

Se presentan en individuos de todas las edades que han sido tratados con inhibidores de la topoisomerasa II. Generalmente, el período de tiempo que transcurre entre el tratamiento y la aparición de la leucemia es corto, y suele ser de 33 a 34 meses.

Morfología y citoquímica. La mayoría de los casos son leucemias monoblásticas o mielomonocíticas; algunas son granulocíticas y, de forma muy poco frecuente, promielocíticas.

Existen casos de LAL en relación con el tratamiento con etopósido, que se asocian con la alteración cromosómica que involucra al cromosoma 11 (11q23).

Genética. El hallazgo citogenético más característico es la implicación de 11q23[49], y la más frecuente es la t(9;11), t(11;19) y t(6;11). Otras alteraciones implican la banda 21q22 como la t(8;21) y la t(3;21). También se han descrito casos con la implicación de t(8;16) y la t(6;9), y alguno con leucemia promielocítica con una t(15;17)(q22;p21) típica[33]. Los casos que se presentan en forma de leucemia aguda linfoblástica se asocian a la t(4;11)(q21;q13).

Pronóstico. La mayoría de casos responden a la quimioterapia de forma muy semejante a la de los casos *de novo*.

Leucemias agudas mieloides sin ninguna de las características de los grupos anteriores

Engloban a la mayoría de los subtipos de LAM del grupo FAB (M0, M1, M2, M4, M5, eritroides, megacariocíticas), la va-

riante LAM/síndrome mieloproliferativo en el síndrome de Down, la leucemia aguda basofílica, la panmielosis aguda con mielofibrosis y el sarcoma mieloide (tabla 19.8).

Leucemia aguda mieloide mínimamente diferenciada

Se corresponde con la variante M0 de la FAB. Es una LAM sin evidencia de diferenciación mieloide por morfología ni por citoquímica. Esta forma de LAM no puede diagnosticarse por criterios exclusivamente morfológicos y citoquímicos, y sólo la positividad de la mieloperoxidasa (MPO) a nivel ultraestructural y el inmunofenotipo mieloide para CD13 y/o CD33, así como la negatividad de los marcadores linfoides de línea B y T, permiten definirla[1,19,58].

Este tipo de leucemia comprende el 5% de las LAM, y suele afectar a adultos (tabla 19.10).

TABLA 19.10

Caracteres citológicos y biológicos de la leucemia aguda mieloide mínimamente diferenciada (M0 FAB)

Morfología	Blastos muy indiferenciados, agranulares, citoplasma abundante con basofilia variable. Ocasional configuración monocitoide y vacuolización
Citoquímica	Mieloperoxidasa y negro Sudán negativos Mieloperoxidasa positiva en el microscopio electrónico Esterasas inespecíficas +/–
Inmunofenotipo	MPO citoplasmática +/– y/o CD13+ o CD33+ y/o CD117+ Antígenos específicos de serie linfoide negativos CD22cit, CD3cit CD34, HLA-DR, TdT frecuentemente positivos Inmunofenotipo de resistencia a las drogas
Citogenética	Sin anomalías específicas. Cariotipos complejos Alteraciones del # 4, 7, 8 y 13. Inv(3)(q21;q26)
Molecular	Reordenamiento gen *EVI-1* Configuración germinal de los genes que codifican para células linfoides

Morfología y citoquímica. Los blastos leucémicos son muy indiferenciados, de mediano tamaño, de núcleo redondo en ocasiones ligeramente indentado con uno o más nucléolos. El citoplasma es agranular y de basofilia variable. En ocasiones, los blastos son de menor tamaño y de cromatina condensada, semejantes a los linfoblastos.

Son constantemente MPO, negro Sudán y naftol cloracetato esterasa negativos. Tampoco presentan positividad para las esterasas inespecíficas. Mediante estudio ultraestructural, puede demostrarse actividad de mieloperoxidasa en gránulos de pequeño tamaño, en el retículo endoplásmico y en la zona de Golgi y/o cisterna perinuclear.

Inmunofenotipo. Los blastos expresan uno o más antígenos panmieloides, como CD13, CD33 y CD117. Son negativos a los antígenos pan B y T. La anti-MPO es negativa en la mayoría de casos. Suelen presentar positividad para marcadores de células hematopoyéticas primitivas, como CD34, CD38 y HLA-DR, y suelen carecer de antígenos de diferenciación mielomonocítica como CD11b, CD15, CD14 y CD65. Una tercera parte de los casos presentan positividad para la TdT. Se han descrito casos positivos para antígenos asociados con diferenciación linfoide pero no específicos de línea, como CD7, CD2 o CD19, aunque con intensidad inferior a la que expresan las células linfoides[14,15].

Genética. No presentan un marcador específico. Las alteraciones más frecuentes son cariotipos complejos, trisomía 8, trisomía 4, y monosomía 7. El gen de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas y del receptor de célula T están en línea germinal.

Pronóstico. Presenta un pronóstico pobre, con escasa respuesta al tratamiento, recaídas tempranas y corta supervivencia.

Leucemia aguda mieloide sin maduración

Se corresponde con la LAM M1 del FAB. Se caracteriza por una elevada infiltración de blastos (> del 90%) en ausencia de elementos semimaduros y maduros de la granulopoyesis. Representa el 10% de las LAM (tabla 19.11).

TABLA 19.11

Caracteres citológicos y biológicos de la leucemia aguda mieloide sin maduración (M1 FAB)

Morfología	≥ 90% blastos agranulares (tipo I) o escasamente granulados (tipo II) de núcleo redondeado, cromatina laxa con varios nucléolos. En algunos casos, bastones de Auer o cuerpos Phi Estadios madurativos granulosos más avanzados o elementos monocíticos en proporción minoritaria (< 10% de todas las células medulares) En ocasiones, tamaño celular global muy pequeño (micromieloblastos)
Citoquímica	≥ 3% de blastos mieloperoxidasa y negro Sudán positivos a nivel óptico
Inmunofenotipo	MPO+, CD33+, CD117+, CD13+, HLA-DR+. 10% son TdT y/o CD7+
Citogenética	No se reconocen anomalías cromosómicas características (3;V)8q21:q26),(Inv(3)(q213q26) t(9;22)(q34;q11)

Morfología y citoquímica. Los mieloblastos son de núcleo redondo, sin incisuras y con cromatina fina y nucleolada; el citoplasma suele ser escaso, hialino o débilmente basófilo (fig. 19.4). Algunos blastos pueden contener finos gránulos azurófilos en su citoplasma y, en ocasiones, bastones de Auer.

Un criterio exigido es la presencia de más del 3% de blastos MPO o negro Sudán positivos.

Inmunofenotipo. Expresan como mínimo dos antígenos mielomonocíticos que incluyen CD13, CD33, CD117 y/o MPO. El CD34 suele ser positivo. Los marcadores de estirpe linfoide están ausentes. El 10% de casos presenta expresión aberrante del CD7[59].

Figura 19.4. Leucemia mieloide aguda, tipo M1 de la clasificación FAB (tinción de May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

Genética. La M1 no se asocia con anomalías citogenéticas recurrentes de la OMS, aunque se ha observado que casos aislados (2%) de LAM con t(9;22) corresponden mayoritariamente a esta variedad.

Leucemia aguda mieloide con maduración

Se corresponde con la LAM M2 del FAB, y representa entre el 30 y el 45% de las LAM (tabla 19.12).

TABLA 19.12

Caracteres citológicos y biológicos de la leucemia aguda mieloide con maduración (M2 FAB)

Morfología	Blastos 20-89% Promielocitos a polimorfonuclear maduro > 10% Células monocíticas < 20% Bastones de Auer frecuentes Eosinofilia < 10%. Basofilia Frecuentes rasgos de dishematopoyesis
Citoquímica	Mieloperoxidasa ++ Reacción negro Sudán + a mazacotes
Inmunofenotipo	CD34+, CD13+, CD15+, CD33+ CD117+, HLA-DR+
Citogenética	Pérdida cromosoma sexual t(6;9)(p23;q34)(DEK-CAN), anomalías en 12p y/o isocromosoma 17q

Morfología y citoquímica. En esta variedad, los blastos se acompañan de más del 10% de elementos con diferenciación mieloide (promielocitos a polimorfonucleares) y menos del 20% de componente monocítico. Los blastos pueden ser agranulados o presentar granulación azurófila y, con frecuencia, bastones de Auer. Los neutrófilos semimaduros y maduros suelen presentar rasgos disgranulopoyéticos como seudo Pelger, desgranulación o gránulos seudo Chediak[23].

La serie eosinófila está ampliamente representada, en ocasiones con discretas alteraciones morfológicas. Existe una variedad con basofilia ligada a la translocación o deleción del cromosoma 12p y con la t(6;9)(p23;q34)(DEK/CAN)[60]. La leucemia aguda M2 asociada con la t(8;21) se describe en el apartado de leucemias agudas mieloides con alteraciones citogenéticas recurrentes.

Diagnóstico diferencial. Cuando el porcentaje de blastos es bajo, se debe plantear el diagnóstico diferencial con un SMD tipo anemia refractaria con exceso de blastos, y cuando el porcentaje de blastos es elevado, con la leucemia mieloblástica sin maduración. En los casos en que los monocitos están aumentados debe descartarse la leucemia aguda mielomonocítica.

Inmunofenotipo. Los blastos suelen presentar más de un antígeno mieloide como CD13, CD33 y CD15. También pueden expresar CD117, CD34 y HLA-DR[14,15].

Genética. La translocación o deleción del cromosoma 12p se asocia con aumento de basófilos en médula ósea. En la t(6;9)(p23;q34) se origina un gen de fusión, el *DEK/CAN*[60]. Algún caso se asocia con la t(8;16)(p11;p13) (MDZ/CBP), que suelen acompañarse de hemofagocitosis, especialmente de eritrofagocitosis[61-63]. La leucemia aguda M2 asociada con la t(8;21) se describe en el apartado de leucemias agudas mieloides con alteraciones citogenéticas recurrentes.

La variedad citológica M2 también se ha asociado con otras alteraciones, como t(3;3), inv 3, trisomía 8 y monosomías 7 y 5.

Leucemia aguda mielomonocítica

Se corresponde con la LAM M4 de la FAB. En esta variedad los blastos, en proporción superior al 20% de la totalidad celular, se acompañan de un componente granulocítico y otro monocítico en distintos grados de maduración, y en una proporción de más del 20% cada uno de ellos[1]. En ocasiones, en sangre periférica se observa una monocitosis de más de 5×10^9/L (tabla 19.13).

TABLA 19.13

Caracteres citológicos y biológicos de la leucemia aguda mielomonocítica (M4 FAB)

Morfología	Mieloblastos ≥ 20% Bastones de Auer Monoblastos, elementos monocitoides ≥ 20% En sangre ≥ 5×10^9/L elementos monocíticos
Citoquímica	Mieloperoxidasa +, esterasas inespecíficas + (inhibición con FNA en el componente monocítico)
Inmunofenotipo	Antígenos mieloides y monocíticos: HLA-DR+, CD34+, CD13+, CD33+, CD15+, CD11b+, CD14+, CD4+

Morfología y citoquímica. Los monoblastos son células de gran tamaño, con abundante citoplasma de basofilia variable y con eventuales mamelones. Pueden presentar una fina granulación azurófila y pequeñas vacuolas. El núcleo suele ser de contorno regular, con fina cromatina y con uno o más nucléolos evidentes. Los promonocitos tienen un contorno nuclear más irregular, con una configuración convoluta, presentan nucléolo y el citoplasma es menos basófilo, con fina granulación azurófila y pequeñas vacuolas. Estos promonocitos no son siempre fáciles de diferenciar de los monocitos más maduros. Los monocitos de sangre periférica suelen ser más maduros que los de la médula ósea.

Más del 3% de los blastos de médula ósea tienen que ser positivos a la MPO. Los monoblastos, promonocitos y monocitos son positivos a las esterasas inespecíficas y fluorosensibles, aunque en ocasiones pueden ser débilmente positivos o incluso negativos. La tinción con la doble esterasa, Naftol/ASD cloracetato esterasa puede mostrar células doble positivas.

Inmunofenotipo. Los blastos suelen ser HLA-DR positivos, expresan de forma variable los antígenos CD13, CD33, y muestran marcadores de diferenciación monocítica CD14, CD4, CD11b, CD11c, CD64, CD36 y lisozima. La intensidad con que se expresan algunos de estos marcadores o patrones de coexpresión de alguno de ellos pueden ser de gran ayuda para reconocer la diferenciación monocítica. Con frecuencia suele observarse una población residual de mieloblastos que expresan CD34 y marcadores panmieloides.

Genética. La mayoría de los casos no expresan alteraciones citogenéticas. Los casos que expresan alteración cariotípica que involucra el brazo largo del cromosoma 16 (16q;22) como alteración más frecuente la inv(16), seguida de la t(16;16) y del(16), se describen en el apartado de las LAM con alteraciones citogenéticas recurrentes, así como los pocos casos con alteración en 11q23. Los casos con la inv(16) suelen presentar un curso clínico más favorable.

Leucemia aguda monoblástica y leucemia aguda monocítica

Se corresponden con la M5a y M5b de la FAB (tabla 19.14).

La designación de leucemia aguda monoblástica y leucemia aguda monocítica requiere que el 80% o más de las células leucémicas medulares sean de la serie monocítica, incluyendo monoblastos, promonocitos y monocitos. Una proporción inferior al 20% de neutrófilos puede estar presente. En la leucemia aguda monoblástica la mayoría de los blastos son monoblastos (≥ 80%), y en la leucemia aguda monocítica, la mayoría de las células monocíticas son promonocitos.

Existen otras variantes no incluidas en esta clasificación, como la variante M5c, en la que los elementos proliferantes se asemejan al histiocito, y la variante M5 con eritrofagocitosis y t(8;16)(p11;p13)(MOZ/CBP), que representa el 0,5% de las LAM[61-63].

Morfología y citoquímica. En la leucemia aguda monoblástica y en la leucemia aguda monocítica los monoblastos son de gran talla, núcleo redondo y citoplasma amplio y basófilo con eventuales mamelones. En ocasiones, pueden presentar una fina granulación azurófila (fig. 19.5). Los promonocitos muestran un núcleo arriñonado y citoplasma de coloración azul-grisácea, dotado de fina granulación y, en ocasiones, vacuolas. Los bastones de Auer son poco frecuentes.

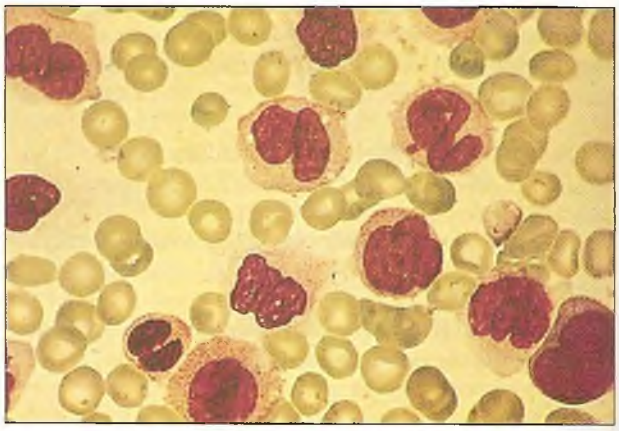


Figura 19.5. Leucemia monocítica aguda, tipo M5 de la clasificación FAB. La mayoría de las células blásticas ofrecen una configuración monocitoide (tinción de May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

TABLA 19.14

Caracteres morfológicos y biológicos de la leucemia aguda monoblástica y monocítica (M5 FAB)

Morfología	Infiltración > 80% de células leucémicas (monoblastos, promonocitos y monocitos)
	Diversas variedades morfológicas: M5a (≥ 80% monoblastos), M5b (predominio de promonocitos) y M5 con eritrofagocitosis
	Monoblastos de citoplasma amplio gris-pizarroso, con seudópodos hialinos y núcleo redondo. Promonocitos y monocitos con núcleo plegado
	< 20% de neutrófilos. Bastones de Auer ocasionales
Citoquímica	Positividad intensa de tipo difusa de las esterasas inespecíficas. Fluoruro sensibilidad
	Mieloperoxidasa negativa-positiva débil
	Marcado aumento de la muramidasa sérica y urinaria
Inmunofenotipo	CD13+, CD33+, CD14+, CD11b+, CD4+, HLA-DR+
	Lisozima +
Citogenética	t(8;16)(p11;p13)(MOZ/CBP)

Los monoblastos y los promonocitos son esterasas inespecíficas positivos con inhibición por el fluoruro sódico. La mieloperoxidasa es negativa en los monoblastos y débilmente positiva en los promonocitos.

En la variante con eritrofagocitosis y t(8;16)(p11;p13)(MOZ/CBP), los blastos están más o menos diferenciados, y presentan imágenes de eritrofagocitosis o hemofagocitosis. Suelen presentar, simultáneamente, intensa actividad para la mieloperoxidasa y las esterasas inespecíficas[62,63].

Inmunofenotipo. Expresan de forma variable los antígenos mieloides CD13, CD33 y CD117, y muestran marcadores de diferenciación monocítica CD14, CD4, CD11b, CD11c, CD64, CD68, CD36 y lisozima. Es HLA-DR positiva, el CD34 es frecuentemente negativo, y el CD33 se expresa intensamente. La intensidad con que se expresan algunos de estos marcadores, o patrones de coexpresión de alguno de ellos, pueden ser de gran ayuda para reconocer la diferenciación monocítica. Con frecuencia suele observarse una población residual de mieloblastos que expresan CD34 y marcadores panmieloides[14,15,63].

Genética. La leucemia aguda monoblástica se asocia con frecuencia con alteraciones del 11q23; estos casos se descri-

ben en el apartado de leucemias mieloblásticas con alteraciones citogenéticas recurrentes. La variante con eritrofagocitosis se acompaña de la t(8;16)(p11;p13)(MOZ/CBP)[62,63], alteración no siempre detectada por citogenética convencional, por lo que ante la sospecha morfológica de esta variante debe analizarse mediante técnicas de biología molecular.

Las leucemias monoblásticas y monocíticas, clínicamente, predominan en adultos de más de 40 años y en niños menores de 10 años, la mitad de los cuales tienen menos de 2 años. Existe una forma asociada con el nacimiento que afecta con frecuencia a la piel y que, en ocasiones, tiene una remisión espontánea transitoria.

Es frecuente la participación extramedular en el momento del diagnóstico o en las recaídas, probablemente relacionada con las propiedades físicas de adhesividad, deformabilidad y movilidad de los monoblastos leucémicos. Los tejidos y órganos más afectados son: piel, SNC, encías, ganglios, hígado, bazo y pulmones. Hasta el 7% de pacientes pueden presentar infiltración meníngea al diagnóstico[5]. Destaca una llamativa incidencia de leucostasis (principal causa de muerte precoz) y de CID (un 12% antes del tratamiento y un 48% después de su inicio). El marcado aumento de lisozimuria explica algunos casos de fallo renal.

El 20% de las LAM M5 con eritrofagocitosis y t(8;16)(p11;p13)(MOZ/CBP) son secundarias a tratamientos con antraciclinas, agentes alquilantes, radioterapia o ciclofosfamida, y el 80% son *de novo*. Cursan con frecuentes organomegalias, afectación inicial del SNC y alteraciones de la coagulación en el momento del diagnóstico[61-63].

Leucemias agudas eritroides

Son leucemias agudas caracterizadas por una proliferación eritroide predominante. Son leucemias poco frecuentes (2-5%). Existe cierta confusión en la clasificación de estas leucemias, por las distintas nomenclaturas utilizadas en las distintas clasificaciones. La clasificación de la OMS reconoce dos tipos basados en la presencia o ausencia de un componente mieloide significativo: la *eritroleucemia* y la *leucemia eritroide pura* (tabla 19.15).

TABLA 19.15

Clasificación de las leucemias eritroides

Eritroleucemia (M6 del FAB)
- M6a con maduración eritroide*
- M6b sin maduración eritroide*

Leucemia eritroide pura (M6 variante, según Garand)
- Leucemia eritroide pura indiferenciada (sin maduración) o leucemia eritroide pura precoz o críptica
- Leucemia eritroide pura con diferenciación (síndrome de Di Guglielmo)

*Kowal-Vern A et al[66]. No considerada por la OMS.

Una separación clara entre estas dos entidades no siempre es posible, y en muchos pacientes hay una progresión gradual de uno a otro tipo. Con frecuencia, el cuadro comienza como una eritremia pura y, posteriormente, se le añade la participación granulocítica.

Eritroleucemia

Se trata de una proliferación leucémica mixta[64] constituida por mieloblastos y elementos de la serie eritroblástica, que se corresponde con la M6 o eritroleucemia de la clasificación del FAB. Para su diagnóstico se requiere que los eritroblastos medulares importen más del 50% de la totalidad celular (sobre un recuento de 500 células) y que más del 20% de la celularidad no eritroide sean blastos mieloides no eritroides, ya que si éstos no alcanzan el 20%, se trata de un síndrome mielodisplásico, que se corresponde con el conocido en la nomenclatura antigua como anemia refractaria con displasia y PAS positividad eritroblástica y/o mielosis eritrémica crónica (fig. 19.1; tabla 19.16).

TABLA 19.16

Caracteres morfológicos y biológicos de la eritroleucemia (M6 FAB)

Morfología	Serie eritroblástica en proporción igual o superior al 50% del total de células medulares
	Mieloblastos tipo I y II en proporción igual o superior al 20% de todas las células no eritroides
	Bastones de Auer ocasionales
	Habitual dishematopoyesis trilínea
	Hematíes espiculados
Citoquímica	Eritroblastos PAS+ en mazacote o patrón difuso. Eritrocitos PAS+ difusos
	Sideroblastos patológicos con tinción de Perls
	Intensa actividad de fosfatasa ácida en los eritroblastos
	Reacción de la mieloperoxidasa + en > 3% de los blastos
Inmunofenotipo	Blastos eritroides: glucoforina A+ y C+, hemoglobina A+, antígenos de grupo sanguíneo A, B, H, Rh D+, CD71+, CD36+
	Blastos mieloides: CD13+, CD33+, CD117+, MPO+, CD34+, HLA-DR+
Citogenética	Alteraciones en cromosomas 5, 7, 8, 21
	Cariotipos complejos (MAKA)

Suelen ser leucemias secundarias a síndromes mielodisplásicos o a un síndrome mieloproliferativo crónico. Representan el 5-6% de las LAM *de novo*. Inciden en dos subgrupos de pacientes, uno corresponde a enfermos de edad avanzada, con frecuentes alteraciones de los cromosomas 5 y/o 7 u otras alteraciones cariotípicas complejas, y características clínicas y biológicas de leucemia aguda iatrogénica. El otro grupo comprende pacientes de edad más joven, con alteraciones citogenéticas simples, o ausencia de alteraciones y supervivencia significativamente más prolongada[65].

Se han reconocido dos formas citológicas de eritroleucemia: la M6a *con maduración*, sin hiato eritrémico, con menos del 30% de proeritroblastos y eritroblastos basófilos; y la M6b *sin maduración*, con más del 30% de proeritroblastos y eritroblastos basófilos (contados sobre la celularidad eritroide)[66] (tabla 19.15). Esta nomenclatura utilizada para

separar ambos tipos de eritroleucemia ha suscitado cierta confusión, ya que la clasificación de la OMS adscribe la terminología de M6a y M6b para la eritroleucemia y la leucemia eritroide pura, respectivamente.

Analíticamente, destaca anemia grave, con pancitopenia, eritroblastos y pocos o ningún blasto en sangre periférica. En ocasiones, se advierten diversas alteraciones inmunológicas: hiperglobulinemia y positividad para el factor reumatoide y ANA[67].

Morfología y citoquímica. Los mieloblastos son similares a los observados en las leucemias agudas mieloides con y sin maduración. Los eritroblastos jóvenes o de diferenciación intermedia presentan importantes rasgos de diseritropoyesis, como gigantismo, rasgos megaloblásticos o vacuolas citoplasmáticas, en ocasiones elongadas y con tendencia a coalescer.

En sangre periférica es frecuente hallar hematíes espiculados y en champiñón, que se asocian de manera significativa con este tipo de leucemia[68].

Los mieloblastos suelen ser mieloperoxidasa y negro Sudán positivos. Los eritroblastos pueden presentar PAS positividad granular intensa en las formas más inmaduras, y difusa en las más maduras; con la tinción de Perls pueden detectarse sideroblastos en anillo.

Inmunofenotipo. Los mieloblastos muestran marcadores de diferenciación mieloide como CD13, CD33, CD117 y MPO, así como CD34 y HLA-DR. El componente eritroide presenta reacción con anticuerpos para la glucoforina A y C. El CD71 es positivo, aunque no es específico de esta línea[1,14,15].

Citogenética. La mayoría presentan un cariotipo complejo tipo MAKA (*major karyotype aberrations*), es decir, tres o más alteraciones citogenéticas con especial afectación de los cromosomas 5, 7, 8 y 21. Este tipo de anomalía se asocia con un pronóstico desfavorable[69].

El diagnóstico diferencial debe realizarse con las variedades M1 a M5 que cursen con una cierta reacción eritroblástica, siempre porcentualmente discreta y menos dismórfica, con un síndrome mielodisplásico que puede cursar con un componente eritroide dismórfico y con una LAM con displasia multilínea. En la figura 19.1 se indica el modo de proceder para diferenciar una M6 de un síndrome mielodisplásico.

Leucemia eritroide pura

Conocida como *LAM M6 variante*[70], se define por la presencia de más del 80% de células inmaduras comprometidas exclusivamente hacia la línea eritroide, sin evidencia de un componente mieloblástico significativo (≤ 3%). En este tipo de leucemia se incluye una forma de leucemia eritroide pura indiferenciada (sin maduración) reconocida por otros autores como *precoz* o *críptica*, y otra forma de *leucemia eritroide pura con diferenciación*; esta última forma se identificaría con el *síndrome de Di Guglielmo* (tabla 19.15).

Morfología y citoquímica. En la *forma precoz* o *críptica* el componente eritroide apenas presenta estigmas de diferenciación (hiato eritrémico). Los blastos mieloperoxidasa positivos no deben superar el 3%, con menos del 10% de eritroblastos maduros en la médula[65]. El bloqueo acontece a nivel de los CFU-E o BFU-E, y no es fácil demostrar el origen eritroide de la población blástica, por lo que algunos casos son etiquetados erróneamente como formas indiferenciadas o de tipo M0. En otras ocasiones, es posible reconocer los blastos como proeritroblastos, pero con frecuencia se asemejan a los blastos de la forma M0 y, ocasionalmente, son microcíticos y parecidos a los de una leucemia aguda linfoblástica. Su identificación se realiza por la positividad a la glucoforina C y A, anhidrasa carbónica y, sobre todo, por alteraciones características observadas en el examen ultraestructural: vesículas pinocitóticas, en relación con la absorción de ferritina (rofeocitosis) y moléculas de ferritina dispersas por el citoplasma o en forma de siderosomas[71].

La *eritremia pura con maduración* cursa sin hiato eritrémico. Los eritroblastos, en una cifra superior al 80%, son de distintos tamaños y muy dismórficos; los signos diseritropoyéticos sobresalientes son la multinuclearidad, el gigantismo y la transformación megaloblástica. Son de observación frecuente los núcleos en forma de trébol, abundantes figuras de cariorrexis y mitosis multipolares, así como vacuolas citoplasmáticas PAS-positivas. Se pueden observar aislados sideroblastos en anillo. En estos pacientes destaca una intensa anemia normocrómica, con macrocitos y eritrocitos que contienen cuerpos de Howell-Jolly, anillos de Cabot y punteado basófilo. Pueden presentar una intensa eritroblastemia que simula una falsa leucocitosis. De modo excepcional, hay casos aneritrémicos. Las cifras de leucocitos y de plaquetas están muy disminuidas. El *diagnóstico diferencial* debe establecerse con la anemia megaloblástica (normalidad de la cifra de vitamina B_{12} sérica y de folatos) y con otras situaciones que cursan con eritroblastosis sanguínea (anemias hemolíticas agudas, hemoglobinopatías, carcinoma metastásico, etc.). El curso clínico suele ser muy tormentoso, y el enfermo fallece en pocas semanas o en algunos meses.

Los eritroblastos son mieloperoxidasa y negro Sudán negativos y alfa naftil acetato esterasa, fosfatasa ácida y PAS positivos.

Inmunofenotipo. La eritremia pura sin maduración es inclasificable fenotípicamente. En la eritremia pura con maduración, el componente eritroide más maduro presenta reacción con anticuerpos antiglucoforina A y C y CD71[14,15].

Citogenética. La mayoría presenta alteraciones cromosómicas múltiples y complejas (MAKA), con especial implicación de los cromosomas 1, 5 y 7; la afectación del brazo corto del cromosoma 1 no está descrita en otras leucemias mieloides, y podría ser considerada característica de esta subvariedad[70]. La presencia de MAKA (*major karyotype aberrations*), es decir, de tres o más alteraciones citogenéticas, se asocia estrechamente con un peor pronóstico respecto de los casos con MIKA (*minor karyotype aberrations*) o cariotipo normal, en los que, citológicamente, las células eritroides tienen una maduración más preservada[69] (tabla 19.15).

Leucemias agudas megacarioblásticas

La leucemia aguda megacarioblástica es una leucemia aguda en la que más del 50% de los blastos son de línea megacariocítica.

Se diferencian dos subtipos: *la leucemia aguda megacarioblástica* y una variante reconocida como *leucemia aguda mieloide* o *síndrome mieloproliferativo transitorio en el síndrome de Down*.

Leucemia aguda megacarioblástica

Incide tanto en los niños como en los adultos. Representa el 8% de las LAM *de novo* y el 16% de las LAM secundarias[1,72] (tabla 19.17). Las manifestaciones clínicas son inespecíficas. La hepatoesplenomegalia y las adenomegalias son infrecuentes. En ocasiones, se detectan lesiones osteolíticas u osteoescleróticas. Analíticamente, destaca una pancitopenia con escasos blastos circulantes. La cifra de plaquetas puede estar moderadamente descendida, pero en el 40% de casos es normal o incluso está aumentada[72,73].

TABLA 19.17

Caracteres morfológicos y biológicos de la leucemia aguda megacarioblástica (M7 FAB)

Morfología	≥ 50% de blastos de línea megacariocítica Blastos de aspecto muy pleomorfo, gran variabilidad de tamaño, citoplasma basófilo, en ocasiones contorno triangular, eventual internalización de eritrocitos, casquetes citoplasmáticos. Rara vez se observa desprendimiento plaquetario Micromegacariocíticos o fragmentos de megacariocitos circulantes Dishematopoyesis trilínea muy frecuente
Citoquímica	Mieloperoxidasa –, ANAE +, butiratosterasa –, 5'-nucleotidasa +, PAS + granular, fosfatasa ácida + tartrato sensible. Peroxidasa plaquetaria + (ultraestructural)
Inmunofenotipo	CD61+, CD41+, CD42+, CD34–, TdT–, marcadores linfoides –, CD7+
Citogenética	Alteraciones # 5, 7, +8, inv(3), +21. Forma infantil: t(1;22)(p13;q13)

Morfología y citoquímica. Los blastos de estirpe megacariocítica pueden adoptar un aspecto morfológico muy diverso. Los megacarioblastos suelen presentar un núcleo de contorno muy variable, con uno o varios nucléolos y citoplasma agranular. En ocasiones, adquieren un aspecto seudolinfoide (L1, L2) e inducen fácilmente a errores de filiación. En otras, tienen abundantes mamelones citoplasmáticos e, incluso, puede observarse un desprendimiento plaquetario. A veces, los blastos forman pequeños agregados. En sangre periférica pueden observarse micromegacariocitos, que no se deben considerar como elementos blásticos, así como fragmentos de megacariocitos y plaquetas dismórficas. Los micromegacariocitos son células de pequeño tamaño, con uno o dos núcleos de cromatina condensada y citoplasma maduro (con formación de plaquetas).

Este tipo de leucemia suele cursar con una intensa fibrosis medular. La aspiración de material medular por punción suele fracasar cuando la fibrosis es intensa; en estos casos, el diagnóstico de leucemia se establece con la biopsia ósea. En ésta, habitualmente, se detecta una extensa e intensa fibrosis. La proliferación fibroblástica causante de la fibrosis parece ser un fenómeno relacionado con la elaboración de factores de crecimiento por los megacariocitos (factor de crecimiento plaquetario y factor plaquetario 4)[74]. Esta fibrosis puede estar ausente en las transformaciones megacarioblásticas de los síndromes mielodisplásicos[72].

Los megacarioblastos son mieloperoxidasa y negro Sudán negativos. La identificación de la estirpe megacarioblástica se realiza mediante técnicas inmunocitoquímicas o de citoquímica ultraestructural, y la evidencia de la *peroxidasa plaquetaria* (PPO) por ultraestructura confirma el diagnóstico[2]. Esta técnica fue establecida por Breton-Gorius en 1978, y demuestra la positividad de la PPO en la cisterna perinuclear y en el retículo endoplásmico rugoso, en ausencia de actividad en la zona golgiana y en los gránulos. La PPO es el marcador megacariocítico más precoz; le sigue, evolutivamente, el complejo glucoproteico IIIa y, luego, las glucoproteínas IIb/IIIa y la Ib.

Diagnóstico diferencial. Se debe establecer el diagnóstico diferencial con la leucemia aguda mieloblástica mínimamente diferenciada, la panmielosis aguda con mielofibrosis, la leucemia aguda linfoblástica, la leucemia eritroide pura, y con la transformación blástica de síndromes mielodisplásicos previos y mielofibrosis idiopática, o como crisis blástica de la leucemia mieloide crónica. Si bien el 90% de las mielofibrosis agudas corresponde a proliferaciones leucémicas de precursores megacariocíticos inmaduros, en una minoría de casos, el síndrome clinicohistológico de la mielofibrosis aguda puede tener por causa una proliferación mieloblástica no megacariocítica[1]. Las leucemias megacarioblásticas que cursan con la t(1;22) en la infancia pueden simular una metástasis de un neuroblastoma. El diagnóstico diferencial con la panmielosis aguda con mielofibrosis no siempre resulta fácil. En la leucemia aguda megacarioblástica predominan blastos megacariocíticos, mientras que en la panmielosis aguda con mielofibrosis los blastos son multilínea[1].

Inmunofenotipo. Los megacarioblastos presentan positividad para los anticuerpos monoclonales contra las glucoproteínas plaquetarias de superficie, como el CD41 (glucoproteína IIb/IIIa) y CD61 (glucoproteína IIIa), y suelen ser negativos para las glucoproteínas de membrana plaquetaria de aparición más tardía, como el CD42 (glucoproteína Ib). Los marcadores mieloides com CD13 y CD33 pueden ser positivos, mientras que casi siempre son negativos para CD45, CD34 y HLA-DR. Otros marcadores útiles para el diagnóstico son las proteínas que contienen los gránulos alfa, y en la superficie plaquetaria, el FVIII, la betatromboglobulina y el factor plaquetario 4[14,74].

Genética. Se han descrito alteraciones en 3q21-26, donde se localizan los genes relacionados con la maduración y la diferenciación megacariocítica, trisomía del par 8 y trastornos de los cromosomas 5 y 7.

En los niños, y particularmente en los de menos de 1 año, puede presentarse la t(1;22)(p13;q13)[1], y en hombres jóvenes con tumor de mediastino de células germinales asociado con leucemia aguda megacarioblástica se han descrito varias alteraciones citogenéticas, entre ellas un i(12p).

El pronóstico en los adultos así como en los niños con t(1;22)(p13;q13) acostumbra a ser pobre[1,75].

Leucemia aguda mieloide/síndrome mieloproliferativo transitorio en el síndrome de Down

Los individuos con síndrome de Down tienen una predisposición aumentada a sufrir una leucemia aguda, sobre todo

de tipo mieloide y especialmente de tipo megacariocítico. En ocasiones, la leucemia puede remitir espontáneamente; cuando esto ocurre, se denomina síndrome mieloproliferativo o leucemia transitoria. Este cuadro suele presentarse en el período neonatal, y se manifiesta con una marcada leucocitosis, con blastosis entre el 30 y el 50% de casos, sin que existan diferencias entre una leucemia aguda y el cuadro transitorio[75].

Morfología y citoquímica. En la mayoría de leucemias agudas en pacientes con síndrome de Down, los blastos presentan un núcleo redondo o irregular, con citoplasma basófilo que puede presentar protrusiones. En ocasiones, algunos blastos contienen una granulación azurófila imprecisa que se asemeja a la granulación basófila. Mientras que los rasgos de diseritropoyesis y dismegacariopoyesis son marcados, los de disgranulopoyesis apenas existen. En el síndrome mieloproliferativo o leucemia transitoria los blastos son indistinguibles de los blastos de las leucemias persistentes.

Los blastos son mieloperoxidasa, negro Sudán y TdT positivos. Algunos pueden presentar peroxidasa plaquetar por citoquímica ultraestructural.

Inmunofenotipo. Presentan unos marcadores similares a los de la leucemia megacarioblástica. Pueden ser CD7 positivos.

Genética. Además de la trisomía 21, pueden observarse otras alteraciones citogenéticas, como trisomía 8. En algún caso con síndrome mieloproliferativo o leucemia transitoria se ha demostrado clonalidad al utilizar análisis de polimorfismos ligados al cromosoma X.

En los casos transitorios, el proceso remite espontáneamente en 2 o 3 meses. Después de remitir, puede acontecer una recaída; en estos casos suelen tratarse como una leucemia aguda, pero la mayoría de los pacientes recaen y mueren de la enfermedad.

Leucemia aguda de basófilos

La leucemia aguda de basófilos es una leucemia a expensas de granulocitos basófilos muy indiferenciados. En ocasiones, se trata de la fase blástica de una leucemia mieloide crónica cromosoma Ph[1] positiva, que había pasado inadvertida[1].

Morfología y citoquímica. Se caracteriza por la presencia en sangre y en médula ósea de un gran número de células blásticas de núcleo redondo o bilobulado, con nucléolos, citoplasma basófilo con gránulos basófilos, metacromáticos, que pueden coexistir con gránulos eosinófilos. Generalmente, se requiere el examen ultraestructural para la confirmación de su diagnóstico[1,76]. El análisis ultraestructural pone en evidencia la naturaleza de los blastos, que presentan gránulos teta, característicos de los basófilos. En ocasiones, en los blastos coexisten gránulos basófilos y gránulos mastocíticos.

Los blastos son peroxidasa negativos y azul de toluidina, omega exonucleasa y aminocaproatoesterasa positivos. Pueden presentar positividad al PAS. Por ultraestructura se pueden observar blastos con mieloperoxidasa en la cisterna perinuclear, retículo endoplásmico y en los gránulos[76-78].

Inmunofenotipo. Los blastos expresan marcadores mieloides como CD13 y CD33, así como CD34 y HLA-DR. Pueden expresar CD9 y TdT.

La presencia de alteraciones genéticas es excepcional. Algunos casos se presentan como una leucemia aguda *de novo* Phi[1] positiva con una t(9;22)(q34;q11).

Panmielosis aguda con mielofibrosis

Es una proliferación panmieloide aguda que va acompañada de mielofibrosis.

Es un tipo de leucemia muy poco frecuente, que incide en adultos y raramente en la infancia. Puede presentarse *de novo* o posteriormente al tratamiento con agentes alquilantes o radioterapia. Es frecuente la presencia de pancitopenia y ausencia de esplenomegalia[1,79].

Morfología y citoquímica. Existe una pancitopenia que va acompañada ocasionalmente de eritroblastos y de elementos neutrófilos inmaduros, con menos del 5% de blastos. Suele existir una discreta poiquilocitosis y rasgos de disgranulopoyesis y distrombopoyesis. El aspirado de médula ósea suele fracasar por obtención de escaso material. La biopsia medular es hipercelular, con una hiperplasia variable de las distintas líneas celulares. Es característica la presencia de abundantes megacariocitos dismórficos. Existe una fibrosis reticulínica de grado variable, y la fibrosis colágena es poco frecuente.

El diagnóstico diferencial debe establecerse, fundamentalmente, con la leucemia aguda megacariocítica, leucemias que cursan con fibrosis medular, metástasis tumorales y con la metaplasia mieloide agnogénica. La distinción entre la leucemia aguda mieloblástica, especialmente la megacarioblástica con fibrosis medular, y la leucemia aguda mieloblástica con displasia multilínea y fibrosis medular puede ser comprometida, aunque no está claro si tiene relevancia clínica. Cuando existe una proliferación de una línea celular que va acompañada de mielofibrosis, se diagnostica leucemia aguda «con mielofibrosis»; si la proliferación blástica es a expensas de distintas líneas celulares, suele clasificarse de panmielosis con mielofibrosis, situación que en algún caso puede corresponder a una leucemia aguda mieloblástica con mielodisplasia.

Inmunofenotipo. Cuando existe suficiente material para analizar la población blástica ésta suele presentar un fenotipo heterogéneo, con positividad para CD34 y expresión de marcadores mieloides como CD13, CD33, CD117 y mieloperoxidasa. En algún caso, los blastos presentan marcadores eritroides o megacariocíticos[1,79].

Genética. El estudio genético puede ser difícil debido al escaso material obtenido; en los casos en que es suficiente, el cariotipo casi siempre es anómalo, y son frecuentes los cariotipos complejos con implicación del cromosoma 5 y/o 7[1].

Sarcoma mieloide

Es un tumor de mieloblastos y de células mieloides en diferentes estadios madurativos de localización extramedular o en el hueso. Clásicamente, se conoce como *cloroma* por su color verde, frecuente pero no obligado, debido a un derivado de la MPO contenida en las células. También se ha denominado *mieloblastoma*[1].

Incide en el 2-3% de las LAM y en el 4-5% de las leucemias mieloides crónicas (LMC). Puede producirse sin evidencia de leucemia aguda en sangre periférica o médula ósea, y preceder en meses a su aparición. También puede observarse como

manifestación tisular de una LAM ya diagnosticada, y anteceder la transformación blástica de una LMC.

Cualquier localización anatómica puede hallarse afectada, y los lugares más frecuentes son piel, ganglios, partes blandas sobre hueso infrayacente, hueso, periostio y vísceras[1].

Morfología y citoquímica. Se reconocen tres tipos de sarcoma granulocítico según el grado de maduración celular: 1) *blástico*, constituido por blastos; 2) *inmaduro*, constituido por blastos y promielocitos, y 3) *diferenciado*, constituido por promielocitos y elementos más diferenciados[1]. El diagnóstico se basa en la presencia de mielocitos neutrófilos y en una tinción positiva para MPO y/o naftol AS-D-cloroacetatoesterasa. La aplicación de la mieloperoxidasa, lisozima y el cloroacetato esterasa son imprescindibles para catalogar correctamente esta entidad. Otro tipo de sarcoma mieloide es el monoblástico, que puede acompañar o preceder a una leucemia aguda monoblástica.

El diagnóstico diferencial debe establecerse con el linfoma no hodgkiniano de células grandes y con un tumor de célula pequeña, como el neuroblastoma o el rabdomiosarcoma, el tumor de Ewing y el meduloblastoma.

Inmunofenotipo. Los blastos tienen un perfil semejante al de los precursores mieloides de las leucemias agudas mieloblásticas, con expresión de antígenos mieloides como CD13, CD33, CD117, MPO. En el caso de los monoblastos, éstos se marcan con CD14, CD16 y CD11c.

Genética. Existe asociación entre el sarcoma mieloide y la leucemia aguda mieloblástica con maduración y con t(8;21)(q22;q22), y la asociación con la leucemia aguda mielomonocítica con eosinofilia e inv(16)(p13;q22). La leucemia monoblástica puede estar asociada con la translocación que implica a 11q23.

Cuando el cloroma se produce en el marco de un síndrome mielodisplásico o de un síndrome mieloproliferativo crónico, se le considera como una transformación blástica de estos procesos.

Leucemias agudas de linaje ambiguo

En el grupo de leucemias agudas de linaje ambiguo se incluyen las *leucemias agudas indiferenciadas*, las *leucemias agudas bifenotípicas* y las *leucemias bilineales*[1].

Las leucemias agudas indiferenciadas son leucemias a las que la morfología, la citoquímica y los marcadores inmunofenotípicos de los blastos no permiten clasificarlas de mieloides ni de linfoides. En las leucemias bifenotípicas los blastos coexpresan antígenos mieloides y linfoides, y en las leucemias bilineales coexiste una clona celular mieloide con otra distinta con marcadores linfoides.

Estos tipos de leucemias representan, aproximadamente, el 5-10% de las leucemias agudas.

Morfología. En la leucemia indiferenciada, los blastos carecen de rasgos de diferenciación. En la leucemia bifenotípica y en la bilineal es frecuente hallar blastos del tipo de la leucemia monoblástica, así como la coexistencia de blastos de tamaño muy desigual, unos pequeños, con poco citoplasma, y otros mayores, con citoplasma amplio. La morfología mieloide predomina sobre la linfoide[1].

Inmunofenotipo. La *leucemia aguda indiferenciada* se caracteriza por presentar blastos que carecen de marcadores específicos de línea como CD3, CD79a, CD22 y la MPO, y no suelen expresar más de un marcador asociado con una línea celular. Es frecuente que expresen HLA-DR, CD34 y CD38. Suelen expresar TdT y CD7.

La *leucemia bilineal* se caracteriza por presentar dos clonas de blastos distintas, una mieloide y otra linfoide, o una B y otra T.

Las *leucemias bifenotípicas* se caracterizan por presentar blastos que coexpresan marcadores mieloides y linfoides, o B y T. Excepcionalmente, pueden presentar marcadores mieloides, linfoides B y linfoides T simultáneamente. Los rasgos bifenotípicos pueden incidir en blastos de morfología L1, L2, M1 o M2, y rara vez en los de tipo M4 y M5; su presencia en las células leucémicas de las M3, M6 o M7 es excepcional o inexistente.

Los criterios para aceptar las leucemias bifenotípicas son aún algo confusos, por lo que seguidamente se citan las directrices establecidas por el grupo EGIL[18], que también son las aceptadas por otros grupos[80-82]. Estas directrices tienen la doble finalidad de unificar criterios respecto a estas leucemias y no confundirlas con leucemias de una única estirpe, que presentan algún marcador aislado, asociado de otras líneas (leucemias fenotípicamente discordantes). En la tabla 19.18 se refiere el «sistema de puntuación» que permite distinguir un caso bifenotípico *bona fide* de otro con expresión aberrante de algún marcador de otro linaje [LAL + marcador mieloide (6%), LAL + marcador linfoide (17%)]. Este sistema se basa en el número y grado de especificidad de los marcadores expresados en la célula leucémica. Estas leucemias derivan, probablemente, de la transformación leucémica de una célula progenitora multipotente con capacidad diferenciativa a lo largo de la línea mieloide y linfoide. Es más frecuente en niños menores de 2 años, y suele presentarse como una leucemia

TABLA 19.18

Sistema de puntuación para la definición de la leucemia aguda bifenotípica propuesta por el grupo EGIL*

Puntuación	Linaje Linfoide-B	Linaje Linfoide-T	Mieloide
2	CD79a cit. CD22 cit. IgM cit.	CD3 anti-TCR	MPO**
1	CD19 CD20 CD10	CD2 CD5 CD8 CD10	CD13 CD33 CD117 (c-kit) CD65
0,5	TdT CD24	TdT CD7 CD1a	CD14, CD15, CD64

*EGIL[18].
**MPO demostrado por métodos citoquímicos o inmunológicos; cit.: citoplásmico.
La leucemia aguda bifenotípica se establece cuando la puntuación entre dos linajes separados es mayor de 2.

de novo o bien, rara vez, como recaída de una LAL o LAM. La cifra de leucocitos suele ser alta, y la proporción de blastos circulantes, variable. Plantean problemas terapéuticos y su pronóstico es sombrío[83]. En la célula leucémica bifenotípica pueden coexistir marcadores mieloides con linfoides B o T, o, en casos excepcionales, se detectan marcadores de tres líneas hematopoyéticas (trifenotípicas)[83]; es del todo excepcional la coexistencia de marcadores B y T. La mayoría de casos son TdT+, HLA-DR+ y CD34+. En las leucemias bifenotípicas que se presentan con morfología y citoquímica mieloide, es frecuente encontrar reordenada la cadena pesada de la Ig o el receptor de la célula T, hecho que confirma su compromiso linfoide a nivel genómico.

No existe una anomalía citogenética específica, y es frecuente la observación de la t(9;22), alteraciones de los cromosomas 5 y 7, reordenamiento de 11q23 y cariotipos complejos[84]. Los blastos suelen ser CD34+, y sobreexpresan la glucoproteína P, hecho que ensombrece el pronóstico.

CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS LINFOIDES

En la clasificación de la OMS[1], las leucemias agudas linfoblásticas (LAL) se incluyen dentro de las neoplasias de precursores de células B y T, y se distinguen dos entidades: la leucemia/linfoma linfoblástico de precursor B y la leucemia/linfoma linfoblástico de precursor T.

Leucemia aguda linfoblástica de precursor B/linfoma linfoblástico

La leucemia linfoblástica de precursor B (LAL-B) y el linfoma linfoblástico B (LL-B) son una misma entidad biológica[1]. Ambas representan la proliferación de células comprometidas hacia la línea B, y muestran idénticas características morfológicas, citoquímicas y genéticas, y sólo se diferencian en el grado de afectación de la médula ósea. La distinción entre ambas entidades es arbitraria: las leucemias infiltran la médula ósea y, generalmente, la sangre periférica, mientras que los linfomas, en ocasiones, pueden presentar afectación primaria nodal o extranodal y, en caso de existir infiltración medular, ésta es mínima o de menos del 25%; si supera esta cifra, es más adecuado el término de leucemia. Esta distinción no siempre es fácil, y pueden existir excepciones.

El 75% de casos de LAL se producen en niños menores de 6 años de edad, y en el 80-85% de casos se trata de precursores de fenotipo B[1]. La afectación extramedular es frecuente, con predilección por el SNC, bazo, hígado, ganglios y gónadas[6]. El LL-B constituye, aproximadamente, el 10% de casos de linfoma linfoblástico, con una edad media de 20 años, parece que de predominio masculino, y los lugares afectados con mayor frecuencia son piel, médula ósea, ganglios y partes blandas[1].

Morfología y citoquímica. Clásicamente, en la clasificación del FAB[8] se han considerado tres subtipos morfológicos de LAL: L1, L2 y L3 (tabla 19.19). La clasificación de la OMS excluye la variedad L3 o leucemia linfoblástica tipo Burkitt, y la considera dentro de las neoplasias de células B maduras sin hacer distinción entre las dos variantes morfológicas L1 y L2.

Los linfoblastos pueden ser de distintos tamaños. En general, tienen una relación nucleocitoplásmica elevada, no poseen nucléolos visibles y son de tamaño pequeño; en ocasiones, son células grandes, de núcleo irregular o indentado, con uno o más nucléolos y basofilia citoplasmática variable. En algunos casos pueden presentar vacuolas citoplasmáticas y varios nucléolos (figs. 19.6 y 19.7).

Existen algunas formas especiales de LAL: la *variante morfológica en espejo de mango*, la *LAL hipergranular* y la *LAL con maduración*.

En la *variante morfológica en espejo de mango*[85], los blastos presentan como característica una prolongación citoplásmica exagerada (urópodo) que contiene gran número de mitocondrias y centríolos, y que permite a la célula un intercambio de información más fácil con otras células inmunocompetentes. La presencia de células en *espejo de mango* no tiene significado pronóstico.

TABLA 19.19

Clasificación de las leucemias agudas linfoides según los criterios del grupo FAB

	Tipo morfológico		
Rasgos citológicos	**L1**	**L2**	**L3**
Tamaño celular	Predominio de células pequeñas	Células grandes y heterogéneas	Células grandes y homogéneas
Cromatina	Homogénea	Variable, heterogénea	Homogénea y en punteado fino Mitosis ≥ 5%
Formas del núcleo	Regular Ocasionalmente hendido o con indentaciones	Irregular Generalmente hendido o indentado	Regular Oval o redondo
Nucléolos	No visibles o pequeños y atenuados	Uno o más, a menudo prominentes	Uno o más, prominentes
Cantidad de citoplasmática	Escasa	Variable, moderadamente abundante	Moderadamente abundante
Basofilia citoplasmática	Ligera	Variable	Muy intensa
Vacuolización	Variable (habitualmente ausente)	Variable (habitualmente ausente)	Prominente

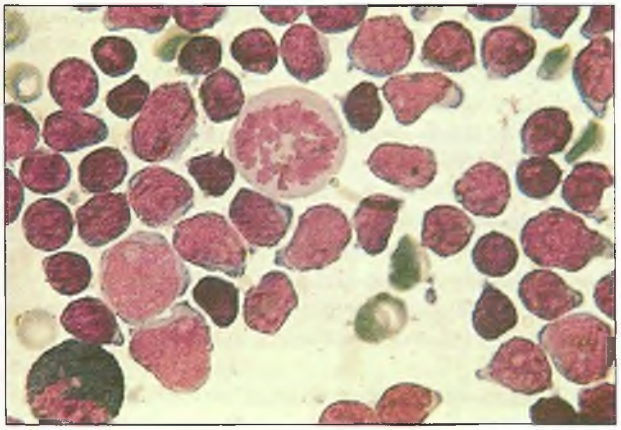


Figura 19.6. Leucemia linfoblástica aguda, tipo L1 de la clasificación FAB (tinción de May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

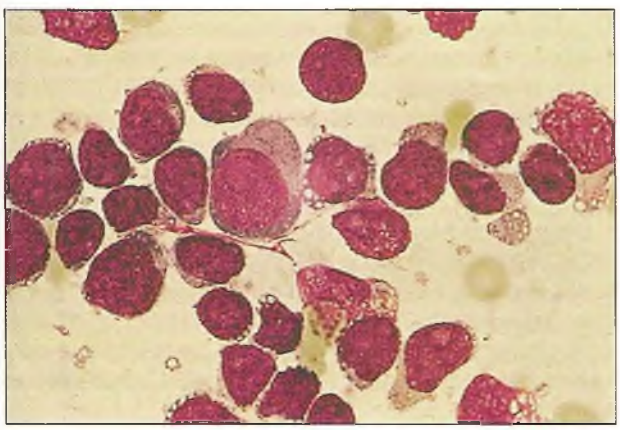


Figura 19.7. Leucemia linfoblástica aguda, tipo L2 de la clasificación FAB (tinción de May-Grünwald-Giemsa, ×1.000).

La *LAL hipergranular*[86] con granulación azurófila es fosfatasa ácida positiva y MPO negativa; el negro Sudán puede mostrar una débil positividad inespecífica de tonalidad grisácea totalmente distinta de la observada en células mieloides. Presenta, en general, un fenotipo común CD10+, rara vez T. Esta forma granular no parece tener características clinicoevolutivas especiales[86].

La *LAL con maduración* es una variante propuesta por Kim et al[87]. Su diagnóstico exige el 20% o más de linfoblastos, y que más del 20% de las células de la médula ósea muestren una maduración posterior a la del prolinfocito, pero con un inmunofenotipo que no difiera del linfoblasto leucémico. El curso clínico es desfavorable, con independencia de otros factores pronósticos.

Citoquímica. Los blastos de las LAL son mieloperoxidasa y negro Sudán negativos. La reacción del PAS es característica, en forma de gruesos mazacotes o gránulos en el 60-90% de casos. Las tinciones citoquímicas de mayor utilidad se detallan en la tabla 19.20.

Inmunofenotipo. La *clasificación inmunológica* resulta imprescindible para el estudio de las leucemias agudas linfoblásticas, y tiene mayor importancia que la clasificación meramente morfológica, ya que el perfil inmunofenotípico define subgrupos de riesgo/pronóstico específico[1,14]. Siguiendo al Grupo Europeo para la caracterización de las leucemias agudas (EGIL)[18], se distinguen dos tipos fundamentales de LAL: las de estirpe linfoide B y T. Según esta clasificación, se reconocen cuatro subtipos de LAL-B, basados en la mayor o menor diferenciación de la clona proliferante: la LALB1 o pro-B, la LALB2 o común, la LALB3 o pre-B y la LALB4 o madura (tabla 19.21).

TABLA 19.20

Criterios citoquímicos de las leucemias agudas linfoides

	Variedad FAB		
Citoquímica	**L1**	**L2**	**L3**
PAS	+m	+m	–
Fosfatasa ácida	+ en T*	+ en T*	–
ANAE	± en T*	± en T*	–
DAP IV	± en T*	± en T*	–
Rojo al aceite	–	–	+

*Positiva cuando más del 70% de los blastos tiene positividad focal centrosómica; m: mazacotes; las tres variedades son negativas a mieloperoxidasa, cloroacetatoesterasa y negro Sudán.

TABLA 19.21

Subtipos inmunológicos de leucemia aguda linfoide-B según el grupo europeo EGIL

Subtipos	Marcadores inmunológicos
LLAB1 o pro-B	$CD79a^+$ y/o $CD22^+$ y/o $CD19^+$
LLAB2 o común	$CD79a^+$ y/o $CD22^+$ y/o $CD19^+$, $CD10^+$
LLAB3 o pre-B	$CD79a^+$ y/o $CD22^+$ y/o $CD19^+$, μ intracitoplasmático
LLAB4 o maduro	$CD79a^+$ y/o $CD22^+$ y/o $CD19^+$, Ig sup.+

En la LAL-B los linfoblastos son TdT positivos y HLA-DR positivos, excepto en la variedad madura. En el subtipo más inmaduro, *LALB1* o pro-B los blastos expresan TdT, CD79a de citoplasma y/o CD22 y/o CD19. En el estadio intermedio llamado LALB2 o común, los blastos expresan además CD10. En el estadio siguiente, LALB3 o pre-B, los blastos son CD10 negativos y expresan cadenas μ intracitoplasmáticas. En la LALB4 o madura, que la OMS considera dentro de las neoplasias de células B maduras, la presencia de inmunoglobulinas de superficie es característica, y morfológicamente se identifica de forma casi constante con la variedad L3, que corresponde al equivalente leucémico del linfoma de Burkitt.

Genética. Las alteraciones cromosómicas se detectan en el 60-85% de las LAL-B utilizando las técnicas adecuadas. El desarrollo de las técnicas de biología molecular ha permitido la detección de anomalías cromosómicas en LAL con

cariotipos aparentemente normales o en aquellos casos de estudios citogenéticos fallidos. Estas alteraciones cromosómicas y genéticas son de gran interés debido al significado pronóstico y al potencial diseño de terapias adaptadas al riesgo. Pero, en las últimas décadas, pocos estudios han analizado su valor pronóstico en pacientes adultos[88].

La OMS establece tres grandes grupos con interés pronóstico: anomalías asociadas con buen pronóstico, con mal pronóstico y las asociadas con pronóstico intermedio[1] (tabla 19.22):

TABLA 19.22

Alteraciones cromosómicas en la LAL-B. Interés pronóstico

Alteraciones asociadas a buen pronóstico
Hiperdiploidía (entre 51 y 65 cromosomas)
t(12;21)(p13;q22)(TEL/AML-1)
Alteraciones asociadas a mal pronóstico
Hipodiploidía
t(9;22)(q34;q12)(BCR/ABL)
t(4;11)(q21;q23)(MLL/AF4)
t(1;19)(q23;p13.3)(E2A/PBX)
Alteraciones asociadas a pronóstico intermedio
del(6q), del(9p), del(12p), hiperdiploidía (< 51 cromosomas), triploidías y tetraploidías

1. *Anomalías asociadas a buen pronóstico.* Incluye dos alteraciones: la hiperdiploidía (entre 51 y 65 cromosomas) que se observa exclusivamente en el fenotipo B y más específicamente en el común[18], y la t(12;21)(p13;q22), que da lugar al gen de fusión *TEL/AML-1*. Ésta es una translocación críptica, casi nunca detectable por citogenética, pero que las técnicas moleculares la evidencian en una cuarta parte de las leucemias infantiles.
2. *Anomalías asociadas a mal pronóstico.* Incluyen cuatro tipos: la hipodiploidía, la t(9;22)(q34;q12), la t(4;11)(q21;q23) (MLL/AF4) y la t(1;19)(q23;p13.3) (E2A/PBX). La t(9;22)(q34;q12) resulta de la fusión del gen *BCR* situado en el cromosoma 22q11.2 y el gen *ABL* en el cromosoma 9q34, y es la más frecuente en los adultos. El resultado de esta translocación es el *cromosoma Ph'*, que se observa en el 2-3% de las LAL infantiles y en el 25% de las LAL del adulto. La incidencia en las LAL se relaciona directamente con la edad y varía desde el 2,3% de los casos pediátricos hasta el 43% en los adultos de más de 50 años[88]. En el Capítulo 17 se describe el mecanismo de la translocación t(9;22) a nivel citogenético y molecular. En las LAL Ph' positivas el gen híbrido de fusión *BCR/ABL* puede dar lugar tanto a una proteína tirosina-cinasa de 210 kDa (p210), característica de la LMC, como a un proteína de 190 kDa (p190), pero de mayor actividad tirosina-cinasa que su homóloga p210[88-90]. En la mayoría de las LAL pediátricas la proteína que se produce es la p190 kDa, mientras que en el 50% de LAL de adultos se produce la p210 (que correspondería al inicio blástico linfoide de la LMC). La t(4;11)(q21;q23)(MLL/AF4) se puede encontrar en las LALB1 o proB; con esta translocación se produce la fusión del gen *MLL* que se localiza en el cromosoma11q23 con el gen *AF4* en el cromosoma 4q21. El gen *MLL* puede translocarse con diferentes genes, y las LAL con alteraciones en 11q23 pueden aparecer también como leucemias secundarias al tratamiento con etopósido.

   La t(1;19)(q23;p13.3) se encuentra en el 25% de las LAL infantiles pre-B, de morfología L1, y da lugar al gen de fusión *E2A/PBX*.
3. *Pronóstico intermedio.* En este grupo se incluyen: la del(6q), del(9p), del(12p), hiperdiploidía (< 51 cromosomas), triploidías y tetraploidías.

   Las translocaciones t(8;14), t(8;22) y t(8;2) se observan solamente en la variedad L3, que la OMS considera dentro de las neoplasias de células B maduras.

El grado de diferenciación de las células blásticas tiene una correlación clínica y genética[89]. Las LAL-B con reordenamiento del gen *MLL* se asocian con un fenotipo proB. Las LAL-B con la t(1;19) son de inmunofenotipo pre-B, CD34 negativas, CD10 positivas, CD20 débil o negativas y cadenas μ intracitoplasmáticas positivas. Las LAL-B con t(12;21) muestran CD19, CD10 y HLA-DR muy positivas y son habitualmente CD20 negativas. Este tipo de leucemias presenta de forma característica CD13 o CD33. La negatividad o expresión parcial de CD9 y CD20 son altamente predictivos de la presencia del gen *TEL-AML1*, y la mayoría de LAL con la t(9;22)(q34;q12) presenta un inmunofenotipo de célula LAL común.

Diagnóstico diferencial. El diagnóstico diferencial de las LAL-B se ha de realizar con las LAL-T y las LAM mínimamente diferenciadas, mediante estudio inmunofenotípico[14] (en el caso de los mieloblastos, por la positividad a la mieloperoxidasa, cloroacetatoesterasa y lisozima) y también con la blastosis medular asintomática[1,91]. Así, ya en 1947, Jean Bernard advirtió sobre la existencia de blastosis medulares no leucémicas, secundarias a otras patologías (anemia hemolítica, sepsis neonatal, tuberculosis generalizada, infecciones varias, carcinomatosis extensas, estados de inmunodeficiencias, neutropenia congénita, etc.). En las médulas regenerativas postrasplante, postirradiación y posquimioterapia puede existir también una blastosis valorable. Su observación es más frecuente en niños, adolescentes y adultos jóvenes que, sin patología alguna, pueden presentar un aumento de células blásticas linfoides o precursores B normales en la médula ósea[91,92] (las denominadas *hematogonias*). Dicho hallazgo no es en modo alguno excepcional. En algunas circunstancias, la situación es especialmente comprometida. Así, por ejemplo, en el caso de una púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), en la que si se solicita la punción esternal, aparte de evaluar la riqueza megacariocítica y su gradiente madurativo, es sobre todo para descartar que la trombocitopenia sea sintomática de una leucemia aguda. Aproximadamente la mitad de los niños con PTI presentan en la médula ósea células B inmaduras HLA-DR+, CD19+ y CD10+[1,91].

Las hematogonias no se observan en la sangre periférica, y en la biopsia ósea su distribución es intersticial. La morfología óptica de estas células blásticas no presenta rasgos distintivos patognomónicos, y se asemeja a la de los linfocitos jóvenes inmaduros. Su diámetro medio suele ser superior a 10 μm, y existen otros elementos de menor tamaño; en todos ellos, se aprecia una gran desproporción nucleocitoplasma a favor del núcleo, con un citoplasma hialino, agranular, de contorno bien definido y reducido a una estrecha franja perinuclear. La cromatina ofrece un aspecto muy particular; su estructura

aparece deslustrada, como si se observase a través de un cristal esmerilado, y este detalle citológico es, en nuestra opinión, el más constante. En ocasiones, se advierten nucléolos, aunque su presencia no es obligada. El contorno nuclear suele ser regular, si bien en una minoría de células puede ser ondulado o incisurado. Esta población blástica encontrada en proporción variable, pero dentro de unos márgenes bastante precisos (5-20%), se acompaña constantemente de una infiltración por elementos linfocíticos morfológicamente muy próximos a los linfocitos maduros, que se hallan en una proporción que oscila entre el 20 y el 30% de la totalidad celular. Este acompañamiento hace creíble que se trate de una misma estirpe celular en distinto estadio evolutivo.

No presentan positividad para las hidrolasas ácidas, esterasas inespecíficas ni material PAS positivo.

La hematogonia y el linfoblasto leucémico son TdT positivos y pueden expresar CD10. Sin embargo, mediante citometría de flujo multiparamétrica, el inmunofenotipo de las hematogonias es característico, ya que carecen de antígenos aberrantes y muestran un patrón reproducible de coexpresión de marcadores asociados con la diferenciación linfoide B, como CD10, CD19, CD20, CD34 y CD45. Hay una expresión continua de estos antígenos indicando maduración, con predominio de estadios intermedios (CD10+, CD19+, TdT negativa, IgS negativas) y tardíos (CD19+, CD20+, IgS+). Por el contrario, los linfoblastos de la LAL-B muestran un predominio de células inmaduras (TdT+, CD19+, IgS–, CD20–)[1].

Estas células quedan definidas mayoritariamente por sus características fenotípicas como *células pre-B*[91,93]. Por el contrario, la población linfoide madura más abundante contiene IgG de superficie, pero no cadenas μ intracitoplasmáticas, y se define como *linfocitos B maduros*.

Dicha celularidad pre-B y B se ha estudiado por citogenética y técnicas moleculares, sin que se pudiesen detectar anomalías clonales. Molecularmente, se demuestra configuración en línea germinal de los genes que codifican las cadenas pesadas de las Ig[1].

Estas blastosis resultan, asimismo, muy incómodas cuando se observan en pacientes diagnosticados con anterioridad de leucemia aguda indudable, que están en remisión prolongada o curados, llevando, por tanto, varios años sin terapéutica alguna. Al respecto, los inmunólogos ya reconocen que la médula ósea de algunos pacientes afectados de leucemia aguda curada puede presentar oligoblastosis de aspecto indiferenciado que obliga a recurrir a diversas técnicas empleadas para detectar enfermedad mínima residual. La problemática de diferenciar blastos regenerativos de blastos residuales de una leucemia linfoblástica aguda entraña una gran responsabilidad.

El aumento de hematogonias en la médula ósea no se asocia con posterior evolución a leucemia aguda.

En los ganglios linfáticos y en localizaciones extranodales, el LLB pediátrico plantea el diagnóstico diferencial con el linfoma de Burkitt y, en los adultos, con la variante blástica del linfoma del manto. La positividad para la TdT, que presenta el LLB, ayuda a establecer el diagnóstico.

Leucemia aguda linfoblástica de precursores T/linfoma linfoblástico

La leucemia linfoblástica de precursores T (LAL-T) y el linfoma linfoblástico T (LL-T) son proliferaciones de células comprometidas hacia la línea T que la OMS[1] considera una misma entidad biológica, en la que la leucemia quedaría definida como aquella situación en la que la extensión de la enfermedad alcanza a la médula ósea y a la sangre periférica y el linfoma, cuando el proceso está confinado a una masa extramedular o la infiltración medular es igual o inferior al 25% de la celularidad global. Esta distinción no siempre es fácil, y pueden existir excepciones. Representan entre el 20 y el 25% de casos de LAL en adultos, y el 15% de los infantiles, y es más frecuente en los varones.

Los pacientes con fenotipo T suelen presentar cifras de leucocitos elevadas, y con gran frecuencia, adenopatías y organomegalias. En el 50% de los LL-T la clínica suele estar bien definida, con masa mediastínica anterior, especial incidencia en adolescentes y elevada leucocitosis, pero también pueden infiltrar ganglios, piel, bazo, hígado, gónadas, SNC y anillo de Waldeyer[6].

Morfología y citoquímica. Las LAL-T, cuya morfología puede ser de tipo L1 o L2 según el FAB[8] (tabla 19.19), presentan como rasgo citoquímico distintivo una intensa actividad centrosómica de fosfatasa ácida en más del 70% de los blastos[2]. Un pequeño número de pacientes con LL-T cursan con eosinofilia e hiperplasia mieloide. En algunos se asocia la t(8;13)(p11.2;q11-22). La eosinofilia es bastante frecuente en el LL-T, y algunos casos, con más frecuencia en varones que en mujeres, desarrollan una LAM, un síndrome mielodisplásico o un sarcoma mieloide[1]. Asimismo, debe considerarse como variante la forma de LAL que cursa con eosinofilia, de fenotipo T predominante y con la t(5;14)(q31;q32), que puede cursar con clínica de síndrome hipereosinofílico, eosinófilos dismórficos y expresar el gen del tumor de Wilms. El pronóstico es peor que en las LAL sin eosinofilia[1].

En el LL-T la infiltración borra la arquitectura ganglionar normal, con imágenes en «cielo estrellado» y frecuente infiltración de la cápsula; en algunos casos, los blastos son convolutos y con numerosas figuras mitóticas.

Inmunofenotipo. Las LAL-T constituyen un grupo heterogéneo, según ha evidenciado el uso de anticuerpos monoclonales y de técnicas de biología molecular.

La LAL-T y el LL-T pueden estratificarse según los diferentes estadios de diferenciación intratímica, de acuerdo con el número y secuencia de los antígenos expresados: CD3 citoplasma, CD2 y CD7, los más tempranos, seguidos por el CD5 y CD1a y, finalmente, por CD3 de membrana[14].

El grupo europeo EGIL[18] propuso una clasificación inmunológica de las leucemias agudas de línea T, partiendo de una positividad para el anticuerpo CD3 citoplasmático o de membrana (tabla 19.23). Se admiten las siguientes variedades:

1. LAL-T_1 o Pro-T, CD7+.
2. LAL-T_2 o Pre-T, CD2 y/o CD5 y/o CD8.
3. LAL-T_3 o cortical CD1a+.
4. LAL-T_4 madura CD3 (m) y CD1a–.

También se admiten otras dos variedades: la LAL-Tαβ y la LAL-Tγδ.

Los linfoblastos en la LAL-T y en el LL-T son TdT positivos, y sólo el CD3 se considera línea-específico. Pueden demostrarse reordenamientos clonales del receptor de célula T (TCR) que no es línea-específico[1]. De todos los marcadores mencionados, el CD3 de citoplasma y el CD7 son positivos en la mayoría de casos. Los blastos a menudo coexpresan

TABLA 19.23

Subtipos inmunológicos de leucemias agudas linfoides T según el sistema del Grupo Europeo para la Caracterización Inmunológica de Leucemias Agudas (EGIL) 1995

Tipo EGIL	Marcador inmunológico
LLAT1 o pro-T	Positividad para CD7 y CD3 citoplasmático
LLAT2, pre-T	A lo anterior añadir positividad para CD5 y/o CD2 y/o CD8
LLAT3, tímico	Cualquier caso que sea positivo para CD1a independientemente de la reactividad con otros marcadores
LLAT4, maduras	Demostración de la existencia de CD3 de superficie en ausencia de CD1a

CD4 y CD8, y el CD10 puede ser positivo. Se ha observado positividad para el CD79a en algunos casos. Pueden aparecer antígenos mieloides asociados, como el CD13 y/o CD33, rara vez el CD117. Algunos estudios han mostrado una correlación entre los estadios de diferenciación T y la supervivencia[1], pero no se ha encontrado una correlación genética definitiva. La LAL-T puede ser menos diferenciada que el LL-T, pero ambos grupos se superponen.

La distinción entre LAL-T y linfoma linfoblástico puede ser prácticamente imposible si el linfoma se presenta con un inicio leucemizado. El receptor γδ de la célula T se expresa con mayor frecuencia en la leucemia linfoblástica que el receptor αβ, situación opuesta a la del linfoma linfoblástico T[94]. En casi la mitad de los casos de LL-T se observa positividad para el CALLA, hecho que ocurre en muy pocas LAL-T. En los LL-T CALLA positivos hay reensamblaje de los genes que determinan la síntesis del receptor de la célula T, y no de los que codifican la síntesis de cadenas pesadas o ligeras de las inmunoglobulinas, indicando su estirpe T. En los adultos, parece que el fenotipo pre-T está relacionado con un peor pronóstico.

Genética. El 25-30% de casos de LAL-T/LL-T presenta alteraciones cromosómicas que implican fundamentalmente a los puntos de rotura de los cromosomas donde se localizan los genes de los receptores de células T (TCR). Se han detectado translocaciones que afectan al *locus* α y δ del receptor de célula T (14q11.2), al *locus* β (7q35) y al *locus* γ (7p14-15), con una amplia variedad de genes. Estos genes incluyen factores de transcripción, como MYC (8q24.1), TAL1(1p32), RBTN1(11p15), RBTN2(11p13) y HOX11(10q24), y la tirosincinasa de citoplasma LCK (1p34.3-35).

En la mayoría de los casos, estas translocaciones conducen a disregulación de la transcripción del gen *partner* por yuxtaposición con la región reguladora de uno de los *locus* del receptor de célula T. En el 25% de casos de LAL-T, el *locus* TAL1 se disregula mediante una deleción microscópica en la región 5', más que por una translocación. La del(9p), que origina la pérdida del gen supresor de tumores CDKN2A (un inhibidor de la cinasa ciclina-dependiente CDK4) se produce con mayor frecuencia en LAL-T (aproximadamente, 30% de casos por citogenética y un porcentaje alto por molecular), que en otras subpoblaciones inmunológicas. Estos datos son idénticos en el LL-T, y no tienen una evidencia clínica significativa[1,88]. Pero, a diferencia de las LAL-B, ninguna de las alteraciones observadas permite clasificar a los pacientes en diferentes grupos de riesgo. Además, la evolución clínica es muy variable, lo que sugiere que dentro de las LAL-T podrían englobarse diversas entidades biológicas.

Diagnóstico diferencial. El diagnóstico diferencial de las LAL-T se ha de realizar con las LAL-B y las LAM mínimamente diferenciadas, mediante estudio inmunofenotípico (en el caso de los mieloblastos, por la positividad a la mieloperoxidasa, cloroacetatoesterasa) y también con la blastosis medular asintomática (v. diagnóstico diferencial de LAL-B).

En los ganglios linfáticos y en localizaciones extranodales, el LLT pediátrico plantea el diagnóstico diferencial con el linfoma de Burkitt, y en los adultos, con la variante blástica del linfoma del manto. La positividad para la TdT, que presenta el LLT ayuda a establecer el diagnóstico.

En pediatría se trata con protocolos de LAL-T de alto riesgo, similares a los de la LAL-B, y su supervivencia es comparable.

BIBLIOGRAFÍA

1. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vadirman JW. World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Press, 2001.
2. Woessner S, Florensa L. La citología óptica en el diagnóstico hematológico, 4.ª ed. Madrid: Acción Médica, 2000.
3. Butturini A, Gale RP. Causes of leukemia. En: Keating A, Armitage J, Burnett A, Newland A (eds.). Haematological Oncology. Vol. 2. Cambridge: Cambridge University Press, 1992; 103-117.
4. Leone G, Mele L, Pulsoni A, et al: The incidence of secondary leukemias. Haematologica 1999; 84:937-945.
5. Kenneth B, Daoust M P. Clinical manifestations of acute myeloid leukemia. En: Hoffman R (ed.). Hematology. Basic Principles and Practice. Elsevier 2005; 1071-1095.
6. Berg LB, Steuber CP, Poplack D. Clinical manifestations of acute lymphoid leukemia. En: Hoffman R (ed.). Hematology. Basic Principles and Practice. Elsevier 2005; 1155-1162.
7. Hoelzer D, Gokbuget N, Ottmann O et al. Acute lymphoblastic leukemia. Hematology (Am Soc Hematol Educ Program). 2002: 162-192.
8. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT et al. Proposals for the classification of acute leukaemias. French-American-British (FAB) cooperative grup. Br J Haematol 1976; 33:451-458.
9. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT el al. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British cooperative group. Ann Intern Med 1985; 103:629-639.
10. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT et al. Proposal for the recognition of minimally differentiated acute myeloid leukaemia (AML-M0). Br J Haematol 1991; 78:325-329.
11. Gomis F, Pérez Sirvent ML, Senent A et al. El mieloblasto en el contexto de la leucemia aguda. Haematologica 2001; 86(Supl):1233-1239.
12. Goasguen JE, Matsuo T, Cox C, Bennett JM. Evaluation of the dysmyelopoiesis in 336 patients with de novo acute myeloid leukemia: major importance of dysgranulopoiesis for remission and survival. Leukemia 1992; 6:520-625.
13. Meeting Report. Morphologic, immmunologic and cytogenetic (MIC) working classification of the acute myeloid leukaemias. Second MIC Cooperative Study Group. Br J Haematol 1988; 68:487-494.
14. Ortuño F, Orfao A. Aplicación de la citrometría de flujo en el diagnóstico y seguimiento de las leucemias agudas. Med Clin (Barc) 2002; 118:423-436.
15. Orfao A, De Santiago, Vidriales B et al. Inmunofenotipo del mieloblasto normal y patológico. Haematologica 2001; 86(Supl):1239-1243.

CAPÍTULO **20**

Leucemias agudas infantiles

J. J. Ortega

ÍNDICE

Concepto y frecuencia
Etiología
Clasificación
Clasificación de las LAL
Clasificación de las LAM
Manifestaciones clínicas y biológicas
Clínica inicial
Datos hematológicos y biológicos iniciales
Curso clínico
Diagnóstico y diagnóstico diferencial
Pronóstico y tratamiento de las leucemias agudas linfoblásticas
Factores pronósticos
Grupos de riesgo
Tratamiento
Tratamiento de inducción
Quimioterapia de intensificación, consolidación y reinducción
Tratamiento sobre el SNC
Quimioterapia de continuación
Suspensión de la quimioterapia y recidivas tardías
Tratamiento de las recidivas
Efectos secundarios, secuelas y segundas neoplasias
Tratamiento de las LAL de células B
Trasplante de progenitores hematopoyéticos en las LAL del niño
Direcciones actuales del tratamiento
Pronóstico y tratamiento de las leucemias agudas mieloblásticas
Pronóstico
Factores pronósticos y grupos de riesgo
Tratamiento
Tratamiento de inducción
Tratamientos de consolidación
Tratamiento sobre el SNC
Tratamientos posconsolidación
Direcciones actuales del tratamiento
Bibliografía

CONCEPTO Y FRECUENCIA

Las leucemias agudas constituyen el grupo de neoplasias más frecuentes en el niño, con 40 nuevos casos anuales por cada millón de niños (hasta los 15 años). De estos casos, aproximadamente el 80% corresponde a leucemias agudas linfoblásticas (LAL) y el 20% restante a leucemias agudas mieloblásticas (LAM). La incidencia de LAL es algo mayor en niños entre 3 y 5 años de edad; la proporción de LAM es mayor en el primer año de vida y en la pubertad. En los últimos 25 años se ha registrado un incremento del 10% en la incidencia de LAL, que es algo superior en niños respecto a niñas (proporción de 1,2 a 1).

Ambas enfermedades son proliferaciones clonales malignas de células precursoras linfoides o mieloides, en distintos grados de diferenciación, que dan lugar a una invasión de la médula ósea que abarca más del 20% de la celularidad total y una infiltración de hígado, bazo, ganglios linfáticos y otros órganos y tejidos. A efectos del tratamiento, las LAL y los linfomas no hodgkinianos en el niño están considerados como una misma entidad si la infiltración de células blásticas en la médula ósea excede del 20%.

ETIOLOGÍA

La transformación de un protooncogén en oncogén o la pérdida de un gen supresor determina la transformación de una célula precursora hematopoyética en célula leucémica. Las causas que pueden contribuir a la transformación leucémica de las células incluyen factores genéticos y séricos. Aunque se ha establecido una relación entre ciertos defectos genéticos y un mayor riesgo de padecer una leucemia, la mayoría de los pacientes no tiene predisposición conocida. Entre los defectos genéticos predisponentes se conocen los síndromes de fragilidad cromosómica y deterioro de reparación del DNA, como la anemia de Fanconi, la ataxia-telangiectasia y el síndrome de Bloom, y los niños con alteraciones genéticas de la mielopoyesis, como la agranulocitosis genética de Kostmann y la anemia de Blackfand-Diamond[1]. El síndrome de Down (trisomía 21) comporta un riesgo 15 veces superior al de los individuos sin el síndrome durante los 10 primeros

años de vida[2]. La distribución de LAL y LAM dentro del síndrome de Down sigue la proporción habitual (4 a 1) excepto en los tres primeros años de vida, en los que son más frecuentes las LAM y, en particular, la LAM-M7.

De los factores ambientales y externos no sólo las radiaciones ionizantes sino también los citostáticos y, en particular, los agentes alquilantes y los inhibidores de la topoisomerasa (tenipósido y etopósido) aumentan el riesgo de desarrollo de leucemias secundarias[3]. El papel de los virus como agentes causales de leucemia en niños no se ha comprobado hasta el momento actual.

CLASIFICACIÓN

Las leucemias agudas en el niño se clasifican, según criterios morfológicos, primero, en LAL y LAM, y luego, en diferentes tipos. El estudio de los marcadores celulares por medio de anticuerpos monoclonales y los estudios cromosómicos completan la clasificación actual.

La clasificación por criterios citomorfológicos y citoquímicos comúnmente aceptada es la denominada FAB, desarrollada en 1987, y modificada y completada posteriormente, aparece descrita con detalle en el Capítulo 18.

Clasificación de las LAL

Para las LAL se establecen, según la clasificación FAB, *tres tipos citomorfológicos*: L1, L2 y L3 (linfoblastos pequeños poco dismórficos, linfoblastos pleomorfos y linfoblastos de tipo Burkitt, respectivamente). En 1981 se redefinieron los criterios para la distinción entre L1 y L2[4]. Por su parte, el Children´s Cancer Study Group (CCSG) estableció un sistema por el que se identifica a cada célula, individualmente, como L1 o L2 al considerar que la LAL es de tipo L2 cuando más del 10% de los blastos presentan características de L2 (puntuación de –1 a –4)[5] (tabla 20.1). En niños, el 85% de los casos de LAL corresponde al tipo L1, del 12 al 14% al tipo L2 y del 2 al 3% al tipo L3.

La clasificación por fenotipos inmunológicos es un requisito indispensable para el diagnóstico de la enfermedad. La clasificación por fenotipos, su correlación con los tipos morfológicos y la frecuencia relativa en niños se muestra en la tabla 20.2. Entre el 80 y 85% de las LAL del niño son de estirpe celular B, es decir, de células neoplásicas derivadas de precursores de linfocitos B. Según el grado de inmadurez celular, se distinguen diversos fenotipos: de precursores B escasamente diferenciados o pro-B, «común», pre-B y B-maduro. El fenotipo B expresa una morfología L3. En los restantes fenotipos pueden encontrarse morfologías L1 o L2; esta última es más frecuente en las LAL de estirpe T y en los subtipos más inmaduros.

La LAL de linaje T también puede subclasificarse según el grado de inmadurez pero, con fines terapéuticos, sólo es necesario diferenciar los casos de células T, de células B maduras de fenotipo común y pre-B y de B poco diferenciadas o pro-B[6].

TABLA 20.1

Clasificación de las LAL por los sistemas FAB y CCSG

FAB: baremo en total de la población de blastos		CCSG: baremo en cada blasto	
Cociente N/C	≥ 75% alto = +	alto +; bajo –	
Nucléolos	≥ 75% 0,1 pequeños = + ≥ 25% > 1 prominente = –	0 o 1 pequeño: +; ≥ 1 prominente	
Membrana nuclear irregular	≥ 25% = –	presente: –	
Blastos grandes (2 × linfocitos pequeños)	≥ 50% = –	grande: –	
Interpretación del baremo total	0 a +2 = L1 –1 a –4 = L2	LAL L1 = ≥ 90% células L1 LAL L1-L2 = 76-89% células L1 LAL L2-L1 = 51-75% células L1 LAL L2 ≥ 50% células L2	células L1: 0 a +2 células L2: –1 a –4

TABLA 20.2

Clasificación de las LAL por el inmunofenotipo e incidencia en niños

Tipo y subtipo	Marcadores	Frecuencia	Tipo FAB
LAL de células B			
Precursor B poco diferenciado	CD79a + CD19 + CD10–CyIg–SmIg–	5%	L1-L2
(«pro-B») «común»	CD79a + CD19 + CD10+CyIg–SmIg–	60%	L1 (L-2)
pre-B	CD19 + CD10 + CyIg + SmIg–	15%	L1 (L-2)
B	CD19 + CD10 + CyIg–/+SmIg+	2-3%	L3
LAL de células T	CD3+CD7+CD5+CD2+	15%	L1-L2

CyIg: inmunoglobulinas (cadenas pesadas) en el citoplasma; SmIg: inmunoglobulinas (cadenas ligeras kappa o lambda) en la superficie de la membrana.

En algunos pacientes con LAL se halla una expresión simultánea de algún marcador mieloide. Han sido publicados resultados dispares en relación con la frecuencia de la expresión de antígenos mieloides en LAL en niños, que van del 5 al 22%[7,8]. Este hecho tiene repercusiones en el pronóstico, y debe distinguirse de las leucemias mixtas, híbridas o bifenotípicas, que se definen en la actualidad con arreglo a criterios restrictivos[9]. Algunos han señalado que la mayoría de leucemias mixtas en niños se corresponden con ciertas características clínicas: menores de 1 año de edad, elevada leucocitosis, alto riesgo de recidiva, fenotipo pro-B (CD10 negativo) y translocaciones que afectan a 11q23, y en especial la t(4;11).

En la última década se ha comprobado una correlación clara entre ciertas *anomalías cromosómicas* clonales, las propiedades biológicas de las células leucémicas y las características clínicas[10]. En relación a las anomalías numéricas, se observa hiperdiploidía de 50 o más cromosomas en cerca del 25% de los niños con LAL, correspondiendo la mayoría de casos al fenotipo «común», y suele asociarse a un pronóstico más favorable; en el 6-7% se encuentran hipodiploidías, y tienen una significación pronóstica desfavorable. Por otra parte, tanto en estudios cromosómicos con técnicas de bandeo, como con los métodos de biología molecular, se identifica una serie de anomalías estructurales (translocaciones, fusiones y reordenamientos de genes) con alto valor pronóstico[6,10,11] (tabla 20.3). Entre ellos figura: la t(9;22), también llamada cromosoma Philadelphia y que contiene el gen de fusión BCR-ABL que confiere a los pacientes con LAL portadores de esta alteración un pronóstico desfavorable. Otro ejemplo lo constituye la t(4;11) y otras anomalías que afectan al oncogén MLL que se halla en el cromosoma 11, región q23 y que confiere asimismo un pronóstico más desfavorable. Se halla en el 70% de los lactantes con LAL. No todas las alteraciones cromosómicas estructurales son indicativas de peor pronóstico. Así la t(12;21), detectable por la fusión de los genes TEL y AML-1 se considera predictiva de una respuesta favorable al tratamiento[11].

El estudio cromosómico completa la clasificación junto con la citomorfología y la inmunología, y aporta datos de gran valor biológico y pronóstico.

Clasificación de las LAM

La clasificación FAB basada en criterios morfológicos y citoquímicos es, actualmente, la más empleada (tabla 20.4). Expresa la línea celular (granulocitos, monocitos, macrófagos, eritrocitos y megacariocitos) y el grado de diferenciación; el subtipo M0 es el más indiferenciado. Algunas técnicas citoquímicas (mieloperoxidasas, esterasas) y el estudio de los marcadores inmunológicos sirven de complemento para el diagnóstico de distintos subtipos (v. Capítulo 19). Alrededor

TABLA 20.3

Anomalías cromosómicas estructurales, genes implicados, fenotipo inmunológico y subtipo morfológico en LAL

Anomalía	Genes	Frecuencia (%)	Fenotipo	Tipo FAB
t(8;14)(q24,q23)	MYC/IGH	3	B	L3
t(2;8)(p11;q24)	JGK/MYC	< 1	B	L3
t(8;22)(q24,q11)	MYC/IGL	< 1	B	L3
t(1;19)(q23,pB)	PBX1/E2A	5-6	pre-B	L1-L2
t(9;22)(q34,q11)	BCR /ABL	3-5	B-común o B-inmaduro y pre-B	L1-L2
t(4;11)(q21;q23)	ALL1/MLL	2	pro-B	L2-L1
t(1;14)(p34,q11)	TAL reord	3-4	T	L2-L1
t(12;21)(p13;q22)	TEL/AML1	25	B común pre-B	L1-L2

TABLA 20.4

Subtipos de LAM según la clasificación FAB y frecuencia en niños

Subtipo	Denominación	Incidencia en niños
M0	Leucemia aguda mieloblástica sin maduración	2-4%
M1	Leucemia aguda mieloblástica con escasa maduración	10-12%
M2	Leucemia aguda mieloblástica con maduración	20%
M3	Leucemia aguda promielocítica hipergranular	10%
M3v	Leucemia aguda promielocítica microgranular	
M4	Leucemia aguda mielomonocítica	
M4 Eo	Leucemia aguda mielomonocítica con eosinofilia	25%
M5	Leucemia aguda monocítica	23%
	M5a sin maduración	
	M5b con maduración	
M6	Eritroleucemia	3%
M7	Leucemia aguda megacarioblástica	4%

del 80% de niños con LAM menores de 2 años de edad tienen subtipo M4 o M5. El subtipo M7 es más frecuente en niños menores de 3 años y, en particular, en los que padecen síndrome de Down. La clasificación en tipos morfológicos y la distribución en la edad pediátrica se muestran en la tabla 20.4[12].

El estudio de los marcadores mieloides sirve de ayuda al diagnóstico de varios subtipos; los más frecuentes son CD13 y CD33. El marcador para la mieloperoxidasa es positivo en los subtipos M1 a M4. Los marcadores CD14 y CD11b reconocen las M5; las células eritroides son reconocidas por el anticuerpo antiglicoforina, y las leucemias megacarioblásticas (M7), por los CD41, CD42 y CD61[12]. Las alteraciones cromosómicas tienen gran interés y algunas definen subtipos específicos[13]. Más del 60% de las LAM presentan anomalías cromosómicas clonales. Actualmente, se propone una clasificación de las LAM basada, al mismo tiempo, en criterios citomorfológicos, inmunológicos y citogenéticos (clasificación MIC)[14]. En la tabla 20.5 se muestran las principales asociaciones y su incidencia en una casuística pediátrica[15]. Posteriormente, se hará referencia a sus implicaciones en el pronóstico.

En definitiva, una clasificación correcta de las leucemias agudas implica estudios citomorfológicos-citoquímicos, estudio de los marcadores inmunológicos (inmunofenotipo) y estudios cromosómicos con técnicas convencionales y técnicas de biología molecular. La evaluación de la respuesta al tratamiento y la detección de la enfermedad residual mínima requieren un estudio inicial completo de los aspectos mencionados.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS Y BIOLÓGICAS

Clínica inicial

Las manifestaciones clínicas iniciales de las leucemias agudas en el niño son muy diversas y reflejan, principalmente, el resultado del fracaso de la función medular y de la infiltración blástica en órganos y tejidos extramedulares. Es habitual que la enfermedad se manifieste de forma subaguda en el curso de varios días o semanas, y que los signos y síntomas más frecuentes sean: cansancio, malestar, anorexia, fiebre, infecciones de curso prolongado, hemorragias cutáneas (petequias y equimosis), dolores en las extremidades y abdominalgias. En la exploración física, los hallazgos más frecuentes son: palidez, hepatomegalia, esplenomegalia, adenopatías y púrpura. En las LAM, las adenopatías sólo suelen apreciarse en los subtipos con componente monoblástico (M4 y M5), en las que también en estos subtipos son características la hiperplasia gingival y las tumoraciones óseas o en la piel, así como una mayor frecuencia de infiltración del SNC, en relación con los restantes tipos. Las LAM de subtipo M5 presentan una alta incidencia en menores de 2 años de edad. La afectación meníngea o testicular es poco frecuente, y predomina en las LAL en menores de un año con elevada leucocitosis. El hallazgo de una tumoración mediastínica es característico de las LAL de células T. Un síndrome hemorrágico intenso con tendencia a producir hemorragias intracraneales es característico de los subtipos M3 y M5, y es debido a la asociación de trombocitopenia y coagulación intravascular diseminada.

Datos hematológicos y biológicos iniciales

En las LAL destacan los siguientes datos: *a*) anemia con hemoglobina inferior a 100 g/L en más del 80% de los casos; *b*) leucocitosis superior a 20×10^9/L en el 30-35% y superior a 100×10^9/L en 15%, y *c*) trombocitopenia con cifras de plaquetas inferiores a 100×10^9/L en el 80% de los pacientes. La presencia de blastos en LCR se observa en menos del 5% de los pacientes. Entre los hallazgos biológicos frecuentes destacan la elevación de la lactodeshidrogenasa y la hiperuricemia. En los casos con leucocitosis elevadas y grandes visceromegalias o adenomegalias puede producirse, al inicio del tratamiento, un síndrome de lisis tumoral, con insuficiencia renal, alteraciones en los iones y coagulopatía.

En las LAM también son muy frecuentes la anemia y la trombocitopenia. Aproximadamente el 25% de los niños presenta cifras de leucocitos superiores a 100×10^9/L. Cuando esta cifra es superior a 200×10^9/L existe el riesgo de leucostasis en los parénquimas cerebral o pulmonar, y pueden aparecer complicaciones de extrema gravedad. En el 5% de los casos pueden hallarse blastos en el LCR.

Curso clínico

Si el paciente alcanza una situación de remisión completa (RC) después del tratamiento inicial (el 95% de los casos de LAL y el 80% en las LAM) y ésta se mantiene, no se presentarán más manifestaciones relacionadas directamente con la enfermedad. Sin embargo, a consecuencia del tratamiento y de la situación de depresión inmunitaria, pueden aparecer

TABLA 20.5

Clasificación MIC en LAM y frecuencia relativa en niños

Alteración cromosómica	Frecuencia (% del total de alteraciones)	Morfología FAB	Nomenclatura MIC
t(8;21)	12	M2	M2/t(8;21)
trisomía 8	15	M2, M5	M2/+8 o M5/+8
t(15;17)	10	M3 y M3v	M3 o M3v/t(15;17)
inv/del(16)	5	M4 Eo	M4Eo/inv(16)
–7 o 7q	7	LAM secundaria (M1, M2, M4 y síndrome mielodisplásico	monosomía 7
t/del(11)	3-5	M5a	M5a/t(11q)
t(6;9)	1	M2 baso	M2/t(6;9)
t(8;16)	1	M5b + eritrofagocitosis	M5b/t(8;16)

infecciones producidas por causa de gérmenes oportunistas, y efectos tóxicos precoces y tardíos por los tratamientos administrados. El riesgo de infecciones graves es mayor en las LAM por las fases prolongadas de intensa depresión medular que se mantiene durante el tratamiento. Los efectos tóxicos están en relación con el tipo de medicamentos y con las dosis administradas. Se hará referencia a ellos posteriormente.

Aproximadamente, el 20% de los niños afectados de LAL y el 40% de los que padecen LAM presentan, ya sea durante el período de tratamiento, ya sea después de suspendido éste, recidiva de la enfermedad, que puede originarse en la médula ósea, con manifestaciones clínicas similares a las de la fase inicial, o fuera de la médula. Las recidivas extramedulares son más frecuentes en las LAL, destacando las del SNC (2 a 5%) y las localizadas en los testículos (3-5%). Entre las LAM, a excepción de las variedades monoblásticas (M4 y M5), son raras las recidivas extramedulares.

Los pacientes que no responden al tratamiento experimentan una progresión de la enfermedad y fallecen como consecuencia directa o indirecta de ésta.

DIAGNÓSTICO Y DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Una historia clínica cuidadosa, la exploración física, el examen de sangre periférica y, fundamentalmente, del aspirado de médula ósea y una biopsia medular en determinados casos, proporcionan el diagnóstico de leucemia aguda. Las extensiones del aspirado medular muestran, en la mayoría de casos, una celularidad aumentada, con sustitución de gran parte de la celularidad normal por células blásticas. En las LAM se precisa que más del 20% de las células sean blásticas para diferenciarlas de los síndromes mielodisplásicos. Las características morfológicas junto con las propiedades citoquímicas y, especialmente, el estudio de los marcadores inmunológicos permiten el diagnóstico de LAL o LAM y el subtipo correspondiente. El estudio citogenético, incluyendo las técnicas de biología molecular, completa el estudio. Simultáneamente, debe llevarse a cabo el diagnóstico de extensión mediante imágenes (radiografía de tórax, ecografía abdominal, TC craneal), examen del LCR con citocentrifugado y exámenes analíticos generales (funcionalismo renal y hepático, iones, coagulación plasmática), así como cultivos para bacterias y hongos, e investigación de infecciones víricas, en especial si el paciente está febril. En la tabla 20.6 se exponen las exploraciones que deben realizarse cuando se diagnostica una leucemia infantil.

El diagnóstico diferencial debe hacerse, en ocasiones, con otras enfermedades, como la púrpura trombocitopénica idiopática, la mononucleosis infecciosa, el kala-azar, la aplasia medular y la artritis crónica juvenil. El neuroblastoma en raras ocasiones puede llegar a producir una infiltración masiva de la médula ósea y confundirse con una leucemia aguda. En casos de necrosis medular o fibrosis medular acompañante, en que no es posible obtener material suficiente en el aspirado medular, es necesario recurrir a la biopsia de médula ósea para diferenciar la leucemia de la aplasia medular.

En neonatos con síndrome de Down se plantea, a veces, el diagnóstico diferencial entre un síndrome mieloproliferativo transitorio y una LAM; en tal caso deben practicarse estudios sucesivos. La distinción entre síndrome mielodisplásico y LAM es, en ocasiones, difícil. Los hallazgos citogenéticos pueden ayudar a esta distinción. En algunos casos, la infiltración blástica medular puede ir precedida de una pancitopenia e hipoplasia medular; la repetición de aspirados de médula ósea a intervalos cortos y la práctica de la biopsia medular establecen el diagnóstico.

Como ya se dijo en la introducción, la distinción entre LAL y linfoma no hodgkiniano con afectación medular es arbitraria y, convencionalmente, se diagnostica de LAL si se detectan células blásticas en sangre periférica o si hay una proporción de blastos en médula ósea superior al 20%.

PRONÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS LINFOBLÁSTICAS

Factores pronósticos

Con los esquemas terapéuticos actuales, entre el 95 y el 98% de los pacientes alcanza con el tratamiento de inducción, a las 4-5 semanas, la que se sigue llamando remisión completa (RC), es decir regresión de los signos y síntomas y restauración

TABLA 20.6

Exploraciones previas al tratamiento en la LA infantil

1. Historia clínica	
2. Exploración física	
3. Exámenes hematológicos	Recuentos celulares y fórmula leucocitaria
4. Exámenes bioquímicos	Estudio de la función renal [BUN (nitrógeno ureico en sangre), creatinina], ácido úrico, LDH (lacticodeshidrogenasa), estudio de la función hepática (bilirrubina, ALT, AST, FA), ionograma, proteinograma e inmunoglobulinas
5. Aspirado y biopsia de MO	Clasificación FAB, peroxidasas, PAS, fosfatasas ácidas, esterasas
6. Estudio de marcadores enzimáticos e inmunológicos	TdT, HLA-DR, CD7, CD19, CD20, CyIg, mSIg, CD13, CD33, CD14, CD41/42
7. Estudio citogenético	Estudio cromosómico convencional. Estudios de biología molecular
8. Examen de LCR y del fondo de ojo	
9. Exploraciones por imágenes	Radiografía de tórax, ecografía abdominal y, ocasionalmente, radiografías óseas. Es aconsejable un ecocardiograma y TC craneal con el fin de evaluar posibles complicaciones posteriores
10. Exámenes microbiológicos y serológicos	Cultivos bacterianos, serología frente a virus de hepatitis B y C, Epstein-Barr, CMV, herpes simple y varicela-zoster

de la actividad medular sin células blásticas detectables al examen con microscopia convencional. Alrededor del 80% se mantiene durante 5 años en la situación alcanzada después de recibir quimioterapia de consolidación y mantenimiento durante 2 años, y aproximadamente el 95% de éstos curan definitivamente de la enfermedad leucémica. Una pequeña proporción (3%) presenta recidivas muy tardías, y otra semejante (2%) presenta segundas neoplasias a lo largo de un período comprendido entre 3 y 20 años.

Dada la heterogeneidad de la enfermedad, ha sido posible identificar, mediante estudios estadísticos de grandes series de pacientes, factores de riesgo o *factores pronósticos*; el conocimiento de los mismos ha permitido en los pacientes de menor riesgo reducir la toxicidad del tratamiento, y en los de mayor riesgo, intensificar la terapia y ensayar nuevos tratamientos. De esta forma, los diversos protocolos terapéuticos aplicados incluyen tratamientos diferenciados para los grupos de pacientes de menor riesgo de recidivas, de riesgo intermedio y de alto riesgo.

El tratamiento utilizado ha demostrado ser, a lo largo de los años, el factor de mayor influencia en el curso de la enfermedad y el responsable de que algunos factores de riesgo con tratamientos de hace 15 o 20 años hayan perdido su influencia con los actuales. El ejemplo más claro es de las LAL de fenotipo B maduro. Este subtipo, poco frecuente (entre el 2 y el 3%), va ligado a una morfología celular L3 y a unas alteraciones citogenéticas características: t(8;14), t(2;8) o t(8;22). Con los esquemas de tratamiento empleados para el resto de LAL, incluyendo las de alto riesgo, los resultados eran pobres y se consideraba como una forma de pronóstico altamente desfavorable. Desde que se emplean tratamientos similares a los del linfoma de Burkitt, el pronóstico ha pasado a ser similar al del resto de LAL. Los factores que mantienen su valor pronóstico son los siguientes[16-18]:

1. *Edad*. La edad entre 1 y 9 años es la de mejor pronóstico, seguida por la de 10 a 15 años. La edad inferior a 1 año confiere un pronóstico más desfavorable.
2. *N.° inicial de leucocitos*. Se considera como criterio de mayor riesgo las cifras por encima de 50×10^9/L, si bien es una variable continua.
3. *Características citogenéticas*. Son indicativos de alto riesgo los casos con hipodiploidía (menos de 45 cromosomas), con t(4;11) o reordenamiento del gen en MLL y las formas con t(9;21) o fusión de genes *BCR/ABL* (también llamado cromosoma Ph'). Por el contrario, indican un pronóstico favorable el hallazgo de hiperdiploidía de 50 o más cromosomas y la t(12;21) o fusión de genes *TEL-AML1*[11]. Otras alteraciones cromosómicas consideradas hasta hace pocos años como indicativas de mal pronóstico, como la t(1;19) y la t(8;14) han dejado de serlo con los tratamientos actuales.
4. *La rapidez de la respuesta al tratamiento inicial* es un importante factor pronóstico, y puede evaluarse de dos formas: la desaparición o persistencia de blastos circulantes tras 7 días de monoquimioterapia con prednisona (criterio del grupo alemán BFM) o la persistencia de blastos en aspirado de médula ósea a los 14 días del inicio del tratamiento (criterio seguido por el grupo americano CCSG y los grupos españoles Pethema y SHOP)[19-21].
5. El fracaso en alcanzar la RC con el tratamiento de inducción confiere un pobre pronóstico. Actualmente, un refinamiento en la valoración de la RC lo constituye la valoración de la enfermedad residual mínima (ERM)[22].

Grupos de riesgo

La evaluación de todos los factores mencionados conduce a la identificación de grupos de pacientes con mayor o menor riesgo de recidivas y, en consecuencia, a emplear distintas estrategias terapéuticas[21,23-28]. La finalidad básica es ajustar el tratamiento citostático a las necesidades de cada grupo, y aplicar tratamientos menos intensivos a los grupos con menor riesgo de recidivas, y más intensificados o especialmente adaptados a los grupos con mayor riesgo. Un caso especial de pacientes que precisan un tratamiento diferenciado es la LAL de fenotipo B. La tendencia actual, como ya se dijo, es la de aplicar a estos pacientes tratamientos similares a los empleados para los linfomas de tipo Burkitt en estadios avanzados[29,30]. Otro grupo que debe ser tratado de modo específico es el constituido por los menores de un año de edad[31].

Los factores individuales más desfavorables y que predicen un mayor riesgo de recidivas son los siguientes: *a*) leucocitosis por encima de 200×10^9/L a cualquier edad; *b*) edad inferior a 12 meses y con la translocación t(4;11); *c*) presencia de t(9;22) o gen de fusión *BCR/ABL*; *d*) persistencia de más de 1×10^9/L células blásticas en sangre periférica después de 7 días de tratamiento con prednisona y una dosis intratecal de metotrexato (MTX) o infiltración medular con más del 10% de células blásticas en el aspirado de médula ósea a los 14 días de tratamiento, y *e*) persistencia del 5% o más blastos en médula ósea en la 5.ª semana del tratamiento de inducción. A estos criterios se han incorporado recientemente el de persistencia de enfermedad residual mínima (ERM) superior a 1×10^{-2} en la 5.ª semana o superior a 1×10^{-3} en la semana 14.

Una vez clasificados los pacientes en tres grupos de riesgo, bajo, intermedio y alto, se aplican protocolos terapéuticos diferenciados y de intensidad progresiva (tablas 20.7 y 20.8)

TRATAMIENTO

Los protocolos de tratamiento de LAL vigentes comprenden cuatro componentes: inducción, consolidación con o sin intensificación, tratamiento sobre el SNC y quimioterapia de continuación (tabla 20.8).

Tratamiento de inducción

Es común a todos los grupos de riesgo, y con él pretende obtenerse, en un plazo de 4 a 5 semanas, una situación de RC. Previamente a su inicio, deben instaurarse medidas de soporte, como un tratamiento antiinfeccioso enérgico en caso de que exista evidencia o sospecha de infección, y profilaxis con trimetoprima-sulfametoxazol. Asimismo, debe administrarse hidratación intravenosa, alcalinización y alopurinol para asegurar la eliminación de los productos de la lisis tumoral, en especial en los casos con enfermedad tumoral extendida y leucocitosis elevada. El tratamiento de inducción incluye la administración de cuatro citostáticos: prednisona o prednisolona, vincristina, asparaginasa y daunorubicina, a lo largo de 4 semanas. Al mismo tiempo, se administran de 2 a 3 dosis intratecales de metotrexato (MTX) solo o asociado con arabinósido

TABLA 20.7

Clasificación en grupos de riesgo

I. Grupo de **riesgo bajo.** Frecuencia: 35-40%
Supervivencia esperada: 90-95%
Los pacientes deben cumplir todas las condiciones siguientes:
- Edad de 1 a 9 años
- Leucocitos < 20 × 10^9/L
- Ausencia de infiltración en el SNC y en el testículo
- Fenotipo B común o pre-B
- Ausencia de hipodiploidía, t(9;22) o gen de fusión bcr/abl, t(4;11) o reordenamiento MLL
- Menos de 1 × 10^9/L blastos en sangre periférica el día +8 tras 7 días de tratamiento con corticoides y 1 dosis i.t. de MTX
- Menos del 20% de blastos en médula ósea el día +14
- Menos del 5% de células blásticas y ERM < 1% en médula ósea el día +35

II. Grupo de **riesgo alto.** Frecuencia: 10-15%
Supervivencia esperada: 40-50%
Los pacientes deben tener una o más de las siguientes condiciones:
- Hipodiploidía
- t(9;22) o gen de fusión bcr/abl
- t(4;11) o reordenamiento MLL
- Respuesta pobre a la quimioterapia (día +8, más de 1 × 10^9/L blastos en sangre periférica y/o en médula ósea > 20% blastos el día +14 o > 5% blastos el día +35 o ERM > 1% en médula ósea el día +35
- ERM > 0,1% en la semana 14.ª

III. Grupo de **riesgo intermedio.** Frecuencia: 50%
Supervivencia: 80-85%

Todos los restantes, a excepción de los menores de un año de edad y con LAL de fenotipo B que se tratan con protocolos específicos

de citosina (Ara-C) e hidrocortisona (tabla 20.8). Con este tratamiento se alcanza la RC en el 95% de los pacientes. En diversos protocolos se añade otro u otros fármacos, que suelen ser ciclofosfamida, metotrexato, Ara-C o tenipósido. El grupo BFM utiliza en todos sus protocolos un tratamiento de inducción prolongado en el que, después del tratamiento inicial descrito, se continúa durante 5 semanas con la administración de ciclofosfamida, Ara-C y mercaptopurina; previamente al inicio del tratamiento de inducción, se administra sólo prednisolona durante 1 semana, y una dosis intratecal de MTX para evaluar la respuesta y usarla como factor pronóstico, según se indicó anteriormente. En los pacientes del grupo de riesgo bajo se puede reducir a la mitad la dosis de daunorubicina de 4 a 2 dosis, sin mengua de la eficacia[21].

Quimioterapia de intensificación, consolidación y reinducción

La finalidad es reducir la enfermedad residual mínima. La intensidad del tratamiento en esta fase se halla en relación con el riesgo de recidiva, según la clasificación previa en grupos de riesgo. En la mayoría de protocolos se administra MTX en altas dosis (2-5 g/m^2 en infusión i.v. continua durante 24 horas y en número de 2 a 4 ciclos). En los protocolos

TABLA 20.8

Tratamiento de las leucemias agudas linfoblásticas en niños

Protocolo PETHEMA LAL BR-2001

Inducción

PRED	60 mg/m^2/d p.o. días 1-28
	30 mg/m^2/d p.o. días 29-35
VCR	1,5 mg/m^2 (máx. 2 mg) i.v. días 8, 15, 22 y 29
DAUNO	30 mg/m^2/i.v. días 8, 15
ASPAR	10.000 U/m^2 i.m. días 9 a 11, 16 a 19, 23 a 25
CICLO	500 mg/m^2 días 22 y 23
TIT	(dosis según edad), días 1 y 22

Consolidación-intensificación (CI-1)

MTX	3 g/m^2 i.v. inf. cont. 24 h + FC días 1, 28, 56
MP	50 mg/m^2 p.o. días 1 a 7, 28 a 35, 56 a 63
Ara-C	1 g/m^2/d i.v. días 14-15, 42-43
ETO	150 mg/m^2 i.v., días 14-15, 42-43
TIT	(dosis según edad) días 1, 28, 56

Reinducción (R)

DEXA	6 mg/m^2 p.o. días 1 a 21
	3 mg/m^2 p.o. días 22 a 28
VCR	1,5 mg/m^2 (máx. 2 mg) i.v. días 1, 8, 15
DAUNO	30 mg/m^2 i.v. días 1 y 8
ASPAR	10.000 U/m^2 i.m. días 8-9, 15-16, 22-23
CICLO	1 g/m^2 i.v. día 22

2.ª intensificación (CI-2)

MTX	3 g/m^2 i.v. inf. cont. 24 h + FC día 35
Ara-C	1 g/m^2 i.v. días 49-50
ETO	150 mg/m^2 i.v. días 49-50
TIT	días 1 y 35

Mantenimiento con refuerzos (MR) (5 ciclos de 4 semanas))

MP	50 mg/m^2 p.o. días 1 a 21
MTX	20 mg/m^2 i.m. días 1, 8 y 15
PRED	60 mg/m^2 p.o. días 22 a 28
VCR	1,5 mg/m^2 (máx. 2 mg) i.v. día 22
ASPAR	20.000 U/m^2 i.m. día 22
TIT	día 22

Mantenimiento sin refuerzos (M) hasta completar 2 años
MP y MTX igual dosis que MR

En el protocolo LAL-96 para el grupo de riesgo intermedio las diferencias respecto al LAL-2001-BR son: en inducción se dan 4 dosis de Dauno en lugar de 2, no se da únicamente prednisolona y una TIT la 1.ª semana; la CI-1 y la R son iguales. En la fase MR el número de ciclos es de 7 en lugar de 5.
PRED: prednisolona; VCR: vincristina; DAUNO: daunorubicina; ASPAR: asparaginasa; CICLO: ciclofosfamida; TIT: tratamiento intratecal triple; MTX: metotrexato; FC: factor citrovorum o ácido folínico; MP: mercaptopurina; Ara-C: arabinósido de citosina; ETO: etopósido; DEXA: dexametasona.
Dosis de TIT según edad:

	< 1 año	1-2 años	2-3 años	> 3 años
MTX (mg)	5	8	10	12
Ara-C (mg)	16	16	20	30
Hidrocortisona (mg)	10	10	15	20

PETHEMA para pacientes de riesgo bajo e intermedio se alternan los ciclos de MTX en altas dosis con otros de la asociación de Ara-C y tenipósido en dosis intermedias (tabla 20.8). En los protocolos del Dana Farber Cancer Institute (DFCI) se administran altas dosis de asparaginasa. En los protocolos BFM se administran, después de la segunda fase del tratamiento de inducción (que, de hecho, es un tratamiento de consolidación), cuatro dosis de MTX 5 g/m^2.

Después de esta fase del tratamiento, en los grupos de menor riesgo de recidivas puede pasarse a la quimioterapia de continuación para proseguir, además, con el tratamiento específico sobre el SNC. Después de la fase con MTX en dosis elevadas, se administra un segundo tratamiento de consolidación, similar al de inducción, con los mismos o distintos fármacos, durante un período variable según el grupo de riesgo. Así, en el protocolo PETHEMA LAL-96 y en los del grupo BFM, estos tratamientos de consolidación tienen una duración de 7 semanas. En el llamado régimen de Nueva York, la duración es de 4 semanas. Un segundo tratamiento similar (consolidación tardía) se administra unos meses después. En los pacientes de alto riesgo en los protocolos BFM y PETHEMA, se emplean como consolidación bloques de poliquimioterapia de una semana de duración que incluyen altas dosis de MTX, Ara-C y asparaginasa, junto con otros fármacos en dosis convencionales. En algunos pacientes del grupo de mayor riesgo puede estar indicado realizar un trasplante de progenitores hematopoyéticos después de esta fase.

Tratamiento sobre el SNC

Desde 1970 hasta mediados de la década de 1980, el tratamiento convencional sobre el SNC consistía en la combinación de irradiación holocraneal (entre 18 y 24 Gy) y 5 o 6 dosis intratecales de MTX administradas inmediatamente después de alcanzada la remisión. Con ello se consiguió disminuir la tasa de recidivas neuromeníngeas desde el 50% hasta menos del 10%. No obstante, las secuelas neurotóxicas, con efecto sobre las funciones intelectuales, y el aumento de incidencias de segundas neoplasias en el área irradiada, llevaron a la búsqueda de métodos de tratamiento alternativos que excluyeran la irradiación craneal[20,27,28]. Actualmente, se ha sustituido la irradiación craneal por quimioterapia intratecal, asociada o no con MTX en altas dosis. El tratamiento intratecal se inicia ya en el tratamiento de inducción, y se prosigue en la fase de intensificación y consolidación para completarse en la quimioterapia de continuación. En nuestra experiencia, un total de 10-12 dosis de quimioterapia intratecal triple (MTX, Ara-C e hidrocortisona) administradas en el curso de los 6 primeros meses de tratamiento es suficiente en el grupo de pacientes de menor riesgo[20]; el número de dosis debe ser por lo menos de 14 en los de riesgo intermedio si se administran, además, varias dosis de MTX intravenoso.

Quimioterapia de continuación

Consiste en la administración de mercaptopurina en dosis diarias (50-60 mg/m^2) y metotrexato en dosis semanales (15 a 20 mg/m^2) durante un período comprendido entre 18 y 24 meses, dependiendo de la duración de los tratamientos de inducción y consolidación. En algunos protocolos de tratamiento, como en los protocolos del grupo *PETHEMA* para pacientes con riesgo bajo e intermedio se intercalan tratamientos cortos de «reinducción» con fármacos utilizados en el tratamiento de inducción (prednisona, vincristina y asparaginasa) durante los primeros meses de esta fase. En algunos protocolos se ha ensayado un sistema secuencial, alternando otras parejas de fármacos con la combinación de mercaptopurina y metotrexato[19].

Suspensión de la quimioterapia y recidivas tardías

Con los actuales protocolos de quimioterapia inicial intensiva no es necesario prolongar la quimioterapia más de 2 años. En algunos protocolos, la quimioterapia de continuación se administra durante 1 año más en los varones. Aproximadamente, el 10% de los pacientes presenta recidivas durante el año siguiente a la suspensión del tratamiento, y del 3 al 5%, en el curso del segundo año. Después de 5 años en RC y 3 desde la suspensión de la quimioterapia son raras las recidivas (menos del 5%).

La aparición de recidivas tardías aisladas en SNC es poco frecuente (2-4%). El 5% de los pacientes masculinos presentan recidivas en testes al año siguiente de la suspensión del tratamiento.

Tratamiento de las recidivas

La recurrencia de una LAL siempre es un suceso grave. Los factores que más influyen en el curso posterior son la duración del período de remisión, la localización de la recidiva (médula, SNC, testes o en otro lugar) y el fenotipo[32,33]. Las recidivas medulares en el curso de los primeros 24 meses, incluidas las extramedulares, conllevan un alto riesgo mortal, incluso si reciben trasplantes alogénicos. Lo mismo ocurre en las recidivas en LAL de fenotipo T, independientemente de la duración de la remisión. Con tratamientos de inducción intensificados pueden obtenerse segundas remisiones en el 70-80% de los casos. Con la administración posterior de ciclos alternantes de poliquimioterapia intensiva puede conseguirse consolidar esta remisión. No obstante, con sólo quimioterapia en los casos mencionados son contados los casos que alcanzan remisiones prolongadas, por lo que es preferible practicar un trasplante de médula ósea alogénico (TMO) en los pacientes que dispongan de un donante adecuado (familiar o no familiar). En los casos de recidiva precoz en el SNC, además del tratamiento indicado, es precisa la administración de repetidos tratamientos intratecales (MTX, ARA-C, hidrocortisona) durante las fases de inducción y consolidación, seguida de irradiación craneoespinal. Si la recidiva afecta a los testículos, debe aplicarse, además del tratamiento sistémico, irradiación de ambos testes. En los casos de recidiva extramedular precoz, preconizamos el TMO, ya sea alogénico o autólogo, en la segunda remisión.

En las recidivas medulares que se producen después de 24 meses es posible alcanzar una segunda remisión en el 90% de pacientes. No existe acuerdo sobre si el mejor tratamiento posterior es la quimioterapia intensiva con ciclos alternantes o el TMO. Con ambos procedimientos pueden alcanzarse remisiones prolongadas en el 40-50% de los pacientes, aunque mediante el TMO alogénico o autólogo puede reducirse el riesgo de nuevas recidivas. En las recidivas aisladas en el SNC que acaecen después de suspender la quimioterapia, nosotros aconsejamos una quimioterapia sistémica de inducción y consolidación, seguida de quimioterapia de continuación durante un año, junto con quimioterapia intratecal de inducción y mantenimiento y, finalmente, irradiación craneoespinal

TABLA 20.9

Resultados del tratamiento en leucemias agudas linfoblásticas en niños, en la década de 1990 en las principales series

Autor (protocolo)	Año	N.º de pacientes	% SLE (años)
Schrappe (BFM-90)	1990-1995	2.178	76 (8)
Silvermann (DFC 91-01)	1991-1995	377	83 (5)
Pui (SJCCRH 13A)	1991-1994	165	77 (5)
Gaynon (CCG-1800)	1989-1995	5.121	73 (8)
Vilmer (EORTC 58881)	1989-1998	2.065	68 (8)
Eden (MRC-UKALL XI)	1990-1997	2.090	60 (8)
Conter (AIEOP-ALL 91)	1991-1995	1.194	68,5 (8)

BFM: Grupo alemán Berlin-Frankfurt-Münster; DFC: Dan Farber Consortium (EE.UU.); SJCCRH: Saint Jude Children Cancer Research Hospital (EE.UU.); CCG: Children´s Cancer Group (EE.UU.); EORTC: European Organization for Research and Treatment of Cancer; MRC-UKALL: Medical Research Council (Reino Unido); AIEOP: Associazione Italiana de Ematologia Oncologia Pediatrica.

al final del tratamiento. Con este procedimiento hemos alcanzado remisiones prolongadas en más del 60% de pacientes. En las recidivas testiculares aisladas tardías, un tratamiento de quimioterapia de inducción con irradiación testicular bilateral, tratamiento preventivo intratecal sobre el SNC y quimioterapia de continuación durante un año, da lugar a segundas RC duraderas en más del 70% de pacientes[34].

Efectos secundarios, secuelas y segundas neoplasias

Los resultados de los tratamientos diseñados con los componentes mencionados en diversos centros o grupos cooperativos se muestran en la tabla 20.9.

Alrededor del 70% de los niños con LAL tratados con protocolos de la década de 1980 han curado de la enfermedad leucémica y, actualmente, la proporción esperada es, por lo menos, del 80%. Aunque la mayoría de ellos goza de buena salud y no presenta secuelas aparentes, otros padecen alteraciones causadas por toxicidad tardía de los tratamientos recibidos. De los efectos tóxicos tardíos, los más preocupantes son los que afectan al SNC y las segundas neoplasias. Entre los primeros existen casos de encefalopatías con grave afectación de las capacidades intelectuales y alteraciones psicomotrices; otros, más frecuentes, sólo se traducen en discapacidades más moderadas para el aprendizaje[35]. Aunque, en buena parte, se han atribuido a la irradiación craneal, no debe olvidarse la potencial toxicidad de las quimioterapias intratecales. La población más joven (menores de 3 años) es más vulnerable a los tratamientos combinados sobre el SNC[36].

La aparición de segundas neoplasias, entre los 2 y los 20 años del diagnóstico de la leucemia, ha sido objeto de diversos estudios[37,38]. Se calcula que el riesgo de desarrollar segundas neoplasias puede afectar al 5% de los pacientes curados de la leucemia. Hay que destacar, especialmente entre las segundas neoplasias, los tumores del SNC, LAM, carcinomas de parótida y de tiroides y osteosarcomas. De todos ellos, los de mejor pronóstico parecen ser los carcinomas, siempre que se practique de manera precoz un tratamiento quirúrgico correcto.

Tratamiento de las LAL de células B

Las LAL de células B con morfología L3 y t(8;14) o variante sólo suponen el 2-3% de las LAL en el niño. Clínicamente, se caracterizan por la frecuencia con que se asocian con masas tumorales abdominales, infiltración del SNC, una ocupación incompleta de la médula ósea y una tendencia a desarrollar síndromes de lisis tumoral graves. Hasta hace unos años, el curso era muy desfavorable por la pobre respuesta a los tratamientos empleados en las LAL. En los últimos años, con el empleo de tratamientos diseñados para linfomas de Burkitt en estadios III y IV que incluyen el empleo precoz de MTX y ciclofosfamida en altas dosis, junto con prednisolona, ARA-C, vincristina, etopósido y adriamicina se han conseguido alcanzar curaciones en torno al 70-80%[29,30].

Trasplante de progenitores hematopoyéticos en las LAL del niño

El TPH alogénico de un donante hermano compatible es, actualmente, el mejor tratamiento para los pacientes en segunda remisión después de una recidiva precoz. En el 20-40% de casos se alcanzan remisiones prolongadas, frente a menos del 10% de los casos tratados exclusivamente con quimioterapia[39,40].

En los pacientes con recidivas intermedias y tardías, la indicación del TPH es más controvertida. Creemos que cada caso debe analizarse individualmente. En particular, somos partidarios del TMO en pacientes mayores de 10 años con recidivas medulares en el curso del primer año después de la suspensión de la quimioterapia.

En fases avanzadas (tercera remisión o pacientes que no se hallan en remisión) se alcanzan resultados favorables sólo en el 15% de los pacientes.

La indicación del TPH en primera remisión en niños debe restringirse, en nuestra opinión, a aquellos casos en los que las probabilidades de presentar recidivas sean superiores al 50%. Se incluyen los casos con leucocitosis superiores a 200×10^9/L, los fenotipos T con leucocitosis superiores a 100×10^9/L, las t(9;22), t(4;11), en menores de 12 meses y los casos con pobre respuesta inicial o refractarios al tratamiento de inducción[37].

El TPH de médula, sangre periférica o sangre de cordón umbilical de donante no emparentado tiene las mismas indicaciones que el TPH de donante familiar HLA-idéntico cuando no se dispone de éste.

Las indicaciones del TPH autólogo en LAL en niños no han sido establecidas. Los resultados en casos de muy alto riesgo en primera remisión, en segunda remisión después de recidiva precoz y en fases avanzadas son inferiores a los obtenidos con el TPH alogénico. Por el contrario, los resultados parecen ser equiparables en pacientes en segunda remisión después de recidiva extramedular precoz y tras recidivas medulares después de transcurridos 24 meses desde el diagnóstico[40].

Direcciones actuales del tratamiento

La previsión de la supervivencia de los niños afectados de LAL y que reciben tratamiento es actualmente del 85-90%.

Entre los problemas actuales que esperan ser resueltos en los próximos años figuran los siguientes:

a) Confirmación del valor de la detección de ERM por métodos de citómetro de flujo o de biología molecular en las primeras fases del tratamiento en la inclusión en grupos de mayor riesgo y, por tanto, adaptación del tratamiento.
b) Disminución de la intensidad del tratamiento y, por tanto, de la toxicidad, en los pacientes de bajo riesgo, disminuyendo las dosis de antraciclinas y agentes alquilantes y eliminando los inhibidores de la topoisomerasa (tenipósido y etopósido).
c) Sustitución de la prednisona/prednisolona por dexametasona, basada en la mayor efectividad demostrada en varios estudios[41].
d) Exploración de nuevos tratamientos en subgrupos de alto riesgo, como, por ejemplo, el empleo de imatinib en las LAL *BCR/ABL* positivas[42].

PRONÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS MIELOBLÁSTICAS

Pronóstico

Durante los dos últimos decenios la supervivencia a largo plazo en niños con LAM ha aumentado desde el 10% a cerca del 60% con los tratamientos de quimioterapia[43-46]. Cuando a la quimioterapia se ha añadido el trasplante de progenitores hematopoyéticos alogénico o autólogo, en varios centros se ha incrementado la proporción al 60-70%[44-47]. Los avances han sido también notables en este tipo de leucemias, y en buena parte se deben a los mejores tratamientos de soporte, como la prevención y tratamiento precoz y eficaz de las infecciones, las transfusiones profilácticas de plaquetas y el empleo de quimioterapias intensivas y del trasplante de progenitores hematopoyéticos, ya sean en 1.ª o 2.ª RC.

Factores pronósticos y grupos de riesgo

Dentro de este grupo de leucemias, que en general es de mayor riesgo que el de las LAL, se han podido identificar cuatro tipos de mejor pronóstico[48]:

a) El subtipo M3 con t(15;17) y con buena respuesta inicial al tratamiento. Estos pacientes son objeto, actualmente, de un tratamiento diferenciado.
b) Los pacientes con síndrome de Down y subtipo morfológico M7.
c) El subtipo M2 y t(8;21) con buena respuesta inicial al tratamiento (menos del 5% de blastos en la MO del día +14).

Este grupo de mejor pronóstico está formado por algo más de un tercio del total de pacientes con LAM. Los dos tercios restantes forman el grupo de alto riesgo[48].

Entre los factores de mayor riesgo identificados se hallan la leucocitosis superior a 100×10^9/L, la pobre respuesta inicial (más del 10% blastos en la MO del día +14 del tratamiento), ciertas alteraciones citogenéticas (–7, del 5 o 5q–, cariotipo complejo con más de tres anomalías), así como las leucemias agudas secundarias a tratamientos citostáticos (inhibidores de la topoisomerasa 2, alquilantes) o inmunosupresores (en aplasias medulares) o precedidos de síndromes mielodisplásicos). En la tabla 20.10 se muestra la clasificación en grupos de riesgo basada en la morfología, citogenética y respuesta temprana al tratamiento, según los criterios del grupo BFM. Del grupo de alto riesgo puede segregarse uno de muy alto riesgo formado por las LAM secundarias, las LAM con monosomía 7 o 5 o con alteraciones estructurales complejas.

TABLA 20.10

LAM en niños. Clasificación BFM en grupos de riesgo

	Bajo riesgo	Alto riesgo
Morfología (subtipos FAB o citogenética)	M1/M2+b. Auer M3 M4Eo t(8;21) t(15;17) inv 16	Otros Otros
Blastos en MO el día +15	< 5% (excepto M3)	> 15%
Frecuencia	32%	68%
SLE	68%	33%

Datos de los estudios AML-BFM 83 y 87.

Tratamiento

En el tratamiento de las LAM existen tres fases: inducción, consolidación y tratamiento de posconsolidación (fig. 20.1).

Tratamiento de inducción

El más empleado consiste en la administración de uno o dos ciclos de arabinósido de citosina (Ara-C), en infusión continua durante un período de 7 días, asociado con daunorubicina o idarrubicina durante 3 días. Se añade, en algunos protocolos, un tercer citostático como etopósido o tioguanina. Si después de un tratamiento de inducción no se obtiene una RC, se administra un segundo tratamiento, igual al anterior. En algunos protocolos se administran dos ciclos de inducción a todos los pacientes. Mediante este tratamiento, y después de un período de aplasia de unas 3 semanas de duración, el 80% de los pacientes alcanza la remisión; el 10% fallece por hemorragia intracraneal u otras causas, y otro 10% se muestra refractario al tratamiento.

Tratamientos de consolidación

Los tratamientos (entre 2 y 4) de intensificación consisten en administrar Ara-C en dosis intermedias o altas durante períodos de 4 días, asociados con otro citostático (p. ej., mitoxantrona, etopósido o amsacrina).

Tratamiento sobre el SNC

Para prevenir las recidivas en el SNC se está empleando la administración de varias dosis intratecales (4 a 8) de Ara-C y MTX.

Tratamientos posconsolidación

El empleo adicional de tratamientos supraintensivos seguidos de trasplante de progenitores hematopoyéticos ya sea alogénico de hermano histocompatible o autólogo es motivo de controversia, si bien la mayoría de estudios han demostrado que se incrementa la proporción de pacientes que siguen en remisión continuada[45-47]. En nuestra experiencia personal y en la

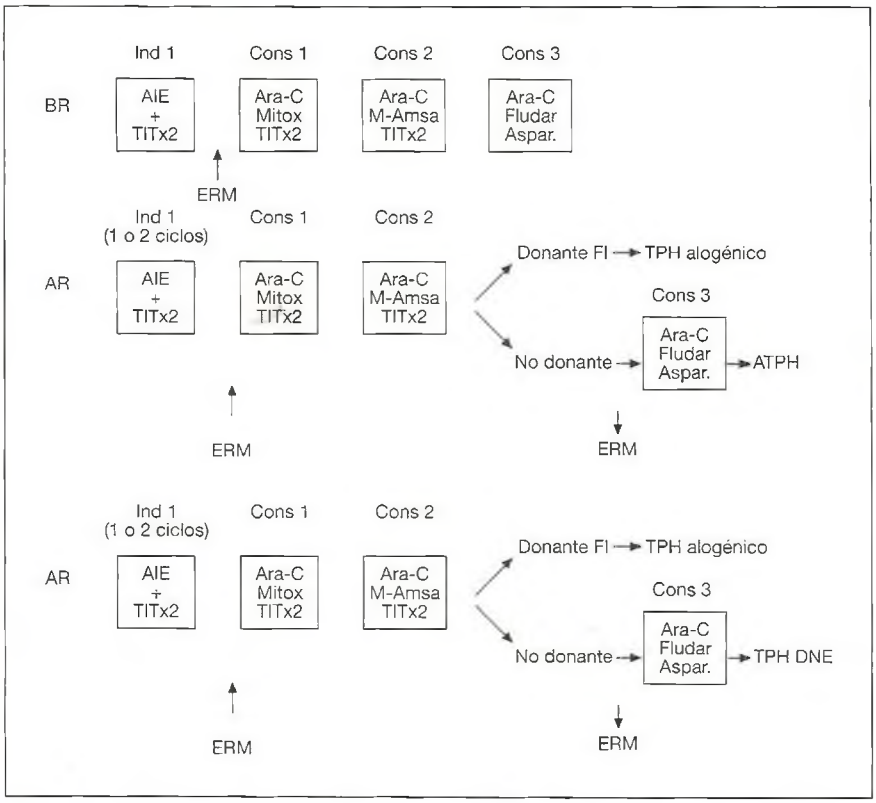


Figura 20.1. Esquema general de tratamiento de las leucemias agudas en el niño. Protocolo LAM 2002.
BR: bajo riesgo; AR: alto riesgo; MAR: muy alto riesgo; Ind: inducción; Cons: consolidación; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos; ATPH: autotrasplante de progenitores hemopoyéticos; FI: familiar idéntico; DNE: donante no emparentado; ERM: enfermedad residual mínima.
Tratamientos. AIE: arabinósido de citosina 100 mg/m^2 en infusión de 24 horas los días 1 a 7; idarrubicina, 12 mg/m^2 i.v. los días 1 a 3; etopósido, 125 mg/m^2 los días 1 a 3; TIT: triple quimioterapia intratecal; Ara-C, 1 g/m^2 cada 12 h i.v. de 3 h cada 12 h × días 1 a 4; Mitox: mitoxantrona 10 mg por m^2/día i.v. días 1 a 3; M-amsa: amsacrina 100 mg/m^2/día i.v. días 1 a 3; Fludar: fludarabina 30 mg/m^2 i.v. días 1 a 4.

de otros grupos la supervivencia sin recidivas puede incrementarse respecto a la alcanzada con sólo quimioterapia de consolidación en el 10-20% de casos, por lo que puede obtenerse una supervivencia global del 70% de los pacientes que inician el tratamiento. En resumen, con protocolos de inducción y dos o tres ciclos de consolidación en los que se usen dosis intermedias o altas de Ara-C en asociación con otros fármacos la SLE es del 50-60%. Si, además, se usan TMO alogénico o autólogo, pueden obtenerse SLE en torno al 70% (tabla 20.11). En los últimos años se tiende a emplear distintas estrategias adaptadas, por un lado, a ciertos subtipos de LAM y, por otro, a grupos de riesgo, de forma análoga a como se hace en las LAL. Así, el subtipo M3 recibe actualmente un tratamiento diferenciado con la inclusión, en la fase de induc-

TABLA 20.11

Resultados de los tratamientos en leucemias agudas mieloides en niños en las principales series en la década de 1990

Autor (protocolo)	Años	N.º de pacientes	RC	% SLE (años)
Creutzig (AML-BFM 93)	1993-1998	161	82%	51 (5)[a]
Behar (EORTC)	1988-1991	108	78%	41 (3)[a]
Michel (LAME 88)	1988-1991	171	87%	47 (4)[a]
Stevens (MRC-AML 10)	1988-1995	341	92%	48 (7)[a]
MRC-AML-12	1996			
Lie (NOPHO-93)	1993-1998	148	92%	57 (5)
Woods (CCG-2891)	1989-1995	179 (quimio)		47 (5) SLR[c]
		181 (TPH-alo)		56 (5) SLR
		177 (auto)		42 (5) SLR
Ortega[b] (LAM-88)	1988-2001	84	92%	68 (8)
O´Brien (ANZCCSG AML2)	1993-1999	160	91%	50 (5)

BFM: Grupo alemán Berlin-Frankfurt-Münster; CCG: Children´s Cancer Group (EE.UU.); EORTC: European Organization for Research and Treatment of Cancer; MRC-UKALL: Medical Research Council (Reino Unido); NOPHO: Nordic Society of Pediatric Hematology/Oncology; ANZCCSG: Australian and New Zealand Children´s Cancer Study Group; SLR: supervivencia sin recaídas en los pacientes en RC; SLE: supervivencia sin recidivas en todos los pacientes que inician el tratamiento.
[a]Parte de los pacientes recibieron TPH alogénico o autólogo posconsolidación.
[b]Todos los pacientes siguieron quimioterapia de inducción y consolidación, seguida de TPH alogénico.
[c]Quimioterapia sólo.

ción, de ácido transretinoico (ATRA), con lo cual se ha disminuido el riesgo de mortalidad por hemorragia y se obtienen remisiones en el 90% de los casos. Con quimioterapia y ATRA en la fase de consolidación y alguna forma de mantenimiento se ha demostrado que el 70-80% siguen vivos sin recidivas[49]. Asimismo, los pacientes con subtipo M7 y síndrome de Down responden muy bien a la quimioterapia y no precisan trasplante. En relación con los grupos de riesgo, se ha podido delimitar un grupo de mejor pronóstico (mencionados en los apartados b y c de factores de riesgo)[48] en los que con sólo quimioterapia puede alcanzarse una SLE del 70% y en el que, por tanto, el trasplante de progenitores hematopoyéticos quedaría relegado a los pacientes que presentan recidivas. Los restantes pacientes (2/3 del total) son de mayor riesgo, y los resultados con quimioterapia sólo, son inferiores a los obtenidos con el TMO[45]. El grupo de mayor riesgo lo formarían los que presentan alteraciones estructurales en los cromosomas 7 y 5 y alteraciones complejas, las LAM secundarias y los casos con pobre respuesta temprana al tratamiento de inducción. En los pacientes de alto riesgo, el recurso al TPH parece obligado. El empleo de donantes no emparentados estaría restringido al grupo de más alto riesgo mencionado. En los restantes casos, el trasplante autólogo, en ausencia de un donante familiar idéntico, aunque controvertido, es eficaz en nuestra experiencia[40,45].

Direcciones actuales del tratamiento

a) La aplicación de los estudios de detección de ERM por citometría de flujo permitirá valorar mejor la respuesta al tratamiento de inducción. La persistencia de ERM a niveles iguales o superiores al 0,01% después de la fase de inducción identifica pacientes con mayor riesgo de recidiva[50].

b) Junto a los factores citogenéticos y moleculares mencionados, otros factores de influencia pronóstica desfavorable, como la presencia de mutaciones en el gen *FLT3*[50-52] o alteraciones del gen *WT1* deben tenerse en cuenta al delimitar los grupos de riesgo.

c) La introducción de nuevos fármacos con dianas celulares específicas, como el ATRA en las LAM-M3 podría aportar una mayor eficacia. Un anticuerpo monoclonal anti-CD33 asociado a una citotoxina, el gemtuzumab, es actualmente objeto de varios ensayos clínicos[53].

BIBLIOGRAFÍA

1. Linet MS. The leukemias: epidemiological aspects. En: Lilienfeld AM, ed. Monographs Epidemiology and Biostatics. Oxford: Oxford University Press, 1985; 1-293.
2. Fong CT, Brodeur GM. Down´s Syndrome and leukemia: epidemiology, genetic, cytogenetics and mechanism of leukemogenesis. Cancer Genet Cytogenet 1987; 28:55-76.
3. Pui Ch, Relling MC, Rivera G et al. Epipodophyllotoxin related acute myeloid leukemia: a study of 35 cases. Leukemia 1985; 9:1990-1996.
4. Bennett JM, Catobvsky D, Daniel MT et al. The morphological classification of acute lymphoblastic leukaemia: concordance among observers and clinical correlations. Br J Haematol 1981; 47:523-561.
5. Miller DR, Leikin S, Albo V et al. Prognostic importance of morphology (FAB classification) in Childhood Acute leukaemia: a report from the Children´s Cancer Study roup. Cancer Treat Rep 1985; 85: 1211-1221.
6. Pui CH, Behm F, Crist WM. Clinical and biological relevance of immunologic marker studies in childhood acute lymphoblastic leukemia. Blood 1993; 82:343-362.
7. Pui Ch, Behm FG, Sing B et al. Myeloid-associated expression lacks prognostic value in childhood acute lymphoblastic leukemia treated with intensive chemotherapy. Blood 1990; 75:198-202.
8. Wiersma SR, Ortega J, Sobel E, Weinberg K. Clinical importance of myeloid-antigen expression in acute lymphoblastic leukemia in childhood. N Engl J Med 1991; 324:800-808.
9. European Group for the Immunological characteristics of leukemias (EGIL). Proposals for the immunological classification of acute leukemias. Leukemia 1995; 9:1783-1786.
10. Pui ChH, Crist WM, Look AT. Biology and clinical significance of cytogenetic abnormalities in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. Blood 1990; 76:1449-1463.
11. Pui Ch. Recent advances in the biology and treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. Curr Op Hematol 1998; 5:292-301.
12. Odom LF. Pediatric Acute Nonlymphoblastic Leukemia. En: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ (eds.). Hematology. Basic principles andpractice. Nueva York: Churchill Livingston, 1991; 748-759.
13. Raimondi S, Chang MN, Ravindranath Y et al. Chromosomal abnormalities in 478 children with acute myeloid leukemia: clinical characteristics and treatment outcome in a Cooperative Pediatric Oncology Group Study-POG 8821. Blood 1999:3707-3716.
14. Second MIC Cooperative Study Group. Morphological, immunologic and cytogentic (MIC) working classification of the acute myeloid leukaemias: Br J Haematol 1988; 68:487-494.
15. Woods WG, Nesbit ME, Buckley J et al. Correlation of chromosome abnormalities with patient characteristics, histologic subtype and induction success with acute nonlymphoblastic leukemia. J Clin Oncol 1985; 3:3-11.
16. Hammond D, Sather H, Nesbit M et al. Analysis of prognostic factors in acute lymphoblastic leukemia. Med Pediatr Oncol 1986; 14: 124-134.
17. Chessels JM, Swansbury GJ, Reeves B et al. Cytogenetics and prognosis in childhood leukaemia: results of MRC UKALL. Br J Haematol 1977; 99:93-100.
18. Gaynon PS, Desai AA, Bostrom BC et al. Early response to therapy and outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia: a review. Cancer 1997; 80:1717-1726.
19. Rivera GK, Raimondi SC, Hancock ML et al. Improved outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia with reinforced early treatment and rotational combination chemotherapy. Lancet 1991; 337: 61-66.
20. Ortega JJ. Spanish Acute Lymphoblastic Leukemia Trials. Int J Pediat Hemat Oncol 1998; 5:163-176.
21. Schrappe M, Reiter A, Zimmermann M et al. Long-term results of four consecutive trials in childhood ALL performed by the ALL-BFM study group from 1981-1995. Leukemia 2000; 14:2205-2222.
22. Coustan-Smith E, Sanchio J, Hancock ML et al. Clinical importance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. Blood 2000; 96:2691-2692.
23. Ortega JJ, Ribera JM, Oriol A et al. Early and delayed consolidation chemotherapy significantly improves the outcome of children with intermediate –risk acute lympho blastic leukemia. Final results of the prospective study. Pethema ALL-89 trial. Haematologica 2001; 86:586-595.
24. Silvermann L, Gelber RD, Kimball-Dalton V et al. Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia: results of Dana-Farber Consortium Protocol 91-01. Leukemia 2001; 97:1211-1218.
25. Pui CH, Boyett JM, Rivera GK et al. Long-term results of Total Therapy studies 11,12 and 13A for childhood acute lymphoblastic leukemia at St Jude Children´s research Hospital. Leukemia 2000; 14:2286-2294.
26. Gaynon GS, Trigg ME, Heerema NA et al. Children´s Cancer Group trials in childhood acute lymphoblastic leukemia:1983-1995. Leukemia 2001; 14:2223-2233.
27. Chessels JM, The management of high-risk lymphoblastic leukemia in children (review article). Br J Haematol 2000; 108:204-216.
28. Lange BJ, Bostrom BC, Cherlow JM et al. Double-delayed intensification improves event-free survival for children with intermediate-

CAPÍTULO 21

Tratamiento de la leucemia aguda linfoblástica del adulto

J. M.ª Ribera

ÍNDICE

Evaluación inicial y medidas generales
Quimioterapia
- Inducción a la remisión
- Tratamiento de consolidación/intensificación
- Tratamiento y profilaxis de la leucemia en el SNC
- Tratamiento de mantenimiento

Trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH)
- TPH alogénico mieloablativo a partir de un hermano histocompatible
- TPH alogénico mieloablativo a partir de donante no emparentado (DNE)
- TPH alogénico con acondicionamiento no mieloablativo o de intensidad reducida (AIR)
- TPH autogénico
- Indicaciones del TPH en pacientes en primera RC

Enfermedad residual y tratamiento en la LAL del adulto
Tratamiento de la LAL resistente o en recaída
Tratamiento de las formas especiales de la LAL
- LAL B madura (Burkitt-*like*)
- LAL con cromosoma Filadelfia (*BCR-ABL*)
- LAL con reordenamientos 11q23 (*MLL*)
- LAL de línea T
- LAL en pacientes de edad avanzada

Estrategias de tratamiento en fase de investigación
Bibliografía

EVALUACIÓN INICIAL Y MEDIDAS GENERALES

Antes de iniciar el tratamiento de la leucemia aguda linfoblástica (LAL) del adulto es indispensable conocer con prontitud las características clinicobiológicas iniciales, las cuales serán esenciales para establecer el pronóstico (tabla 21.1) y para seleccionar el tipo de tratamiento. Estas características incluyen edad, cifra de leucocitos, fenotipo inmunológico, cariotipo y, en determinadas situaciones, estudios de biología molecular[1-4]. Ello es factible en la gran mayoría de centros que tratan hemopatías agudas. Por otra parte, cabe recordar que son pocas las urgencias terapéuticas en la LAL del adulto (masa mediastínica con síndrome de la vena cava superior, LAL con síndrome de lisis tumoral), por lo que puede esperarse a conocer los resultados anteriores que, en general, estarán disponibles en 2-4 días, antes de iniciar el tratamiento.

Ya desde el momento del diagnóstico deben efectuarse las siguientes medidas terapéuticas generales: colocación de un catéter de acceso venoso central, hidratación (en cantidad suficiente para asegurar una diuresis no inferior a 100 mL/h), alcalinización urinaria con bicarbonato y administración de alopurinol (300-600 mg/día, p.o.), o de rasburicasa (0,2 mg/kg y día durante 5-7 días) si se observa síndrome de lisis tumoral o alto riesgo de sufrirlo. En los pacientes de edad superior a 50 años o con antecedentes de cardiopatía es conveniente determinar la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (mediante ventriculografía isotópica o ecocardiografía), ya que si existe una contractilidad disminuida está contraindicada la administración de antraciclínicos. Asimismo, debe efectuarse soporte hemoterápico con concentrado de hematíes, para mantener valores de hematocrito superiores a 0,20 a 0,25 L/L y de plaquetas si su recuento es inferior a 10×10^9/L. Por último, deben tratarse empíricamente las infecciones que pueda presentar el enfermo en el momento del diagnóstico.

QUIMIOTERAPIA

Cabe distinguir varias fases: inducción a la remisión, consolidación/intensificación y mantenimiento. Durante las mismas,

TABLA 21.1

Factores pronósticos en la leucemia aguda linfoblástica del adulto

	Favorable	Desfavorable
Edad	16-30 años	> 30 años
Leucocitos	$< 25 \times 10^9$/L	$\geq 25 \times 10^9$/L
Fenotipo inmunológico	Tímica cortical[a]	Pro-T + pre-T y tímica madura[a]
B madura (Burkitt-*like*)	Pro-B[a]	
Citogenética	t(4;11) (o *ALL1/AF4*)	t(9;22) (o *BCR/ABL*)
Blastos en médula ósea el día +4 del tratamiento	< 5%	> 25%
Remisión completa en 4-5 semanas	Sí	No
ER valorable al final de la inducción y de la consolidación	No	Sí

[a]Para algunos grupos.
ER: enfermedad residual.

se efectúa profilaxis de la leucemia en el sistema nervioso central (SNC).

Inducción a la remisión

El objetivo de esta fase del tratamiento es conseguir la remisión completa (RC), es decir, una situación en la que el enfermo se halla en buen estado general, los recuentos hemoperiféricos son prácticamente normales, la celularidad medular está adecuada en cantidad y no se detecta infiltración por linfoblastos con las técnicas convencionales o ésta es inferior al 5%. La combinación más utilizada de citostáticos incluye un alcaloide de la vinca (vincristina –VCR–), un glucocorticoide (prednisona –PDN–, metilprednisolona o dexametasona –DXM–) y un antraciclínico (en general, daunorubicina –DNR–), a los que suele añadirse la L-asparaginasa (ASP), todo ello durante 4-5 semanas.

Respecto a los glucocorticoides, existen evidencias *in vitro* de que la DXM tiene mayor eficacia antileucémica, aunque su empleo se ha asociado con un mayor riesgo de sufrir infecciones fúngicas. En la actualidad, muchos grupos administran un glucocorticoide durante 1 semana antes de iniciar la administración del resto de citostáticos, lo que permite, de un lado, tener más tiempo para caracterizar a la LAL y adscribirla al grupo de riesgo correspondiente y, de otro, observar el grado de respuesta a este tratamiento, lo que tiene valor pronóstico. Esta actitud es especialmente recomendable en las LAL hiperleucocitósicas, para provocar una lisis tumoral controlada. Por otra parte, no se han registrado diferencias en función del tipo de antraciclínico empleado (DNR, doxorrubicina, epirubicina o idarrubicina)[5], pero en las pautas más recientes los antraciclínicos suelen administrarse en dosis más altas (60 mg/m^2) durante 3 días consecutivos, en lugar de una vez por semana[6]. La adición de ASP no aumenta la tasa de RC pero parece prolongar su duración. Actualmente, se está valorando la eficacia de la ASP conjugada con polietilenglicol (PEG-asparaginasa), cuya tolerancia es mejor que la de *Escherichia coli* o la de *Erwinia*.

En algunos estudios se ha añadido ciclofosfamida (CFM) o arabinósido de citosina (Ara-C) al tratamiento de inducción. Aunque no se ha logrado aumentar la tasa de RC, es probable que estos fármacos hayan determinado una prolongación de su duración, a tenor de la comparación con controles históricos. Ello parece especialmente cierto en la LAL-T y en la LAL-B madura.

Dada la tendencia al empleo de quimioterapias de inducción más intensivas, en la mayoría de protocolos se incluye el empleo de factores estimulantes de colonias (G-CSF). Con ello se ha logrado una reducción en la duración de la neutropenia, una mejor tolerancia de la quimioterapia y, en estudios controlados, una disminución de la mortalidad en el período de inducción[7].

En algunos subtipos LAL se administran pautas específicas de quimioterapia de inducción (como ocurre en las LAL Burkitt-*like*) o se añaden fármacos con actividad específica, como el imatinib mesilato para las LAL con cromosoma Filadelfia (LAL Ph+), lo que se discutirá más adelante.

La tasa de RC obtenida en los diversos regímenes de quimioterapia de inducción oscila entre el 75 y el 85% (tabla 21.2). Es especialmente importante la rapidez con que se logra la RC. Los pacientes que presentan blastos en sangre periférica al día 8 o una proporción significativa (superior al 10%) de blastos en la médula ósea al día 14 del tratamiento de inducción tienen un pronóstico muy desfavorable. La mortalidad en la inducción es del 5-10%, la cual varía ampliamente con la edad (inferior al 5% en adultos jóvenes y superior a 20% en pacientes de más de 60 años). La causa más frecuente de muerte son las infecciones, sobre todo fúngicas (especialmente frecuentes en los pacientes con neutropenia prolongada durante el período de inducción y en los que reciben DXM). En el 10-15% de enfermos la LAL es refractaria al tratamiento. En ellos raramente se consiguen remisiones estables con otras pautas de tratamiento, por lo que, en caso de lograrlas, debe efectuarse un trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) con la mayor prontitud posible (v. más adelante).

Tratamiento de consolidación/intensificación

Con este término se engloba un conjunto de tratamientos destinados a disminuir o eliminar la leucemia residual presente en los pacientes en RC. Estas medidas incluyen la administración de quimioterapia en altas dosis, el empleo de nuevas combinaciones de fármacos o la readministración del tratamiento de inducción[1-4]. El TPH (que se tratará aparte) también constituye un tratamiento de intensificación.

TABLA 21.2

Resultados del tratamiento de la LAL del adulto (series de más de 100 enfermos publicadas entre 1994 y 2004)

Autor	Año	Número de casos	Edad media	RC (%)	Probabilidad SLE/SG (%) (años)
Kantarjian	1994	216*	–	82	40 (3 a)
Preti	1995	162	–	76	40 (3 a)
Larson	1995	197	32	85	36 (5 a)
Mandelli	1996	358	28	79	21 (6 a)
Dekker	1997	130	29	73	22 (5 a)
Durrant	1997	618	–	88	28 (5 a)
Wemli	1997	140	31	69	21 (5 a)
Ribera	1998	108	28	86	47 (5 a)
Larson	1998	198	35	85	36 (3 a)
Rowe	1999	920	–	89	–
Hallbock	1999	120	44	85	36 (3 a)
Kantarjian	2000	204	39	91	38 (5 a)
Göckbuget	2000	1.163	35	83	42 (5 a)
Bassan	2001	121	35	84	49 (3 a)
Dekker	2001	193	33	82	35 (5 a)
Annino	2002	794	28	82	29 (9 a)
Labbar	2004	279	30	81	37 (7 a)
Thomas	2004	922	33	84	37 (5 a)
Ribera	2004	222	27	82	35 (5 a)

RC: remisión completa; SG: supervivencia global; SLE: supervivencia libre de enfermedad.

El beneficio del tratamiento de intensificación con quimioterapia en altas dosis se ha demostrado en controles históricos[8,9] y en algún estudio controlado[10] (aunque no en otros)[11]. Los citostáticos más empleados durante la consolidación son el metotrexato (MTX) en altas dosis (3-5 g/m^2 o más) con rescate con ácido folínico, y el ARA-C en altas dosis (ADAC) (1-2 g/m^2 cada 12 horas)[12]. Ambos fármacos tienen una eficacia demostrada en las LAL-T y en la LAL-B madura (véase más adelante). Su utilidad en el resto de LAL es más dudosa, y son poco eficaces en la LAL Ph+. Estos dos fármacos, cuando se administran en altas dosis, contribuyen a la profilaxis de la leucemia en el SNC, al atravesar la barrera hematoencefálica. En las pautas que emplean MTX en altas dosis y ADAC durante la fase de intensificación, la probabilidad de supervivencia libre de enfermedad prolongada se sitúa en el 35-40% (tabla 21.2). Además del MTX y el ARA-C en altas dosis, en la fase de intensificación suelen administrarse de forma rotatoria otros citostáticos con actividad antileucémica reconocida, como etopósido (VP-16), tenipósido (VM-26), vindesina (VDN), mitoxantrona (MTZ) y 6-mercaptopurina (MP), entre otros.

Tratamiento y profilaxis de la leucemia en el SNC

La leucemia en el SNC se detecta clínicamente en menos del 5% de adultos en el momento del diagnóstico, frecuencia que es especialmente alta en las LAL-T (8-10%) y las LAL B maduras (10-15%). En esta situación debe administrarse quimioterapia intratecal (en general, triple, con MTX, ARA-C y DXM o hidrocortisona) cada 3-4 días desde el inicio del tratamiento de inducción hasta eliminar la infiltración blástica en el LCR. En este momento se administran dos ciclos adicionales de quimioterapia intratecal. Asimismo, es esencial administrar MTX y ARA-C en altas dosis durante la consolidación.

La profilaxis de la leucemia en el SNC debe formar parte de cualquier estrategia terapéutica de la LAL del adulto, ya que, al igual que ocurre en los niños, cuando no se efectúa, la tasa de recaídas en el SNC es elevada (30%). Debe comenzar en la fase de inducción, y continuar durante la consolidación y el período de mantenimiento. Existen tres medidas eficaces de profilaxis de la leucemia en el SNC: el tratamiento triple intratecal, el tratamiento con altas dosis de MTX y ARA-C por vía i.v. y la radioterapia holocraneal. La inclusión del tratamiento con altas dosis de MTX y ARA-C, junto con la quimioterapia intratecal, han llevado a plantear la necesidad de eliminar la radioterapia holocraneal, actitud que se lleva a cabo en un gran número de protocolos actuales de tratamiento de LAL, sin que ello haya determinado una variación en la tasa de recaída en el SNC, que se sitúa en el 5-7% de los adultos con LAL. Sin embargo, es posible que la radioterapia sea necesaria en algunas situaciones en las que la probabilidad de recaída neuromeníngea sea elevada, como sería el caso de las LAL-T hiperleucocitósicas. En el momento actual se está investigando la eficacia de la administración intratecal de fármacos en formulación de liberación prolongada (depot) como el ARA-C depot para la profilaxis y tratamiento de la leucemia en el SNC.

La toxicidad de la profilaxis de la leucemia en el SNC es baja en los adultos, y se limita a reacciones febriles, aracnoiditis y, muy ocasionalmente, leucoencefalopatía. En cambio, y a diferencia de los niños, no suelen registrarse trastornos de la atención y del aprendizaje, y tampoco se ha descrito una mayor frecuencia de tumores cerebrales.

Tratamiento de mantenimiento

La finalidad de esta fase es eliminar la leucemia residual que pueda existir después del tratamiento de consolidación/intensificación. En la LAL del adulto no está bien establecido cuáles son el tipo y la duración óptimos del tratamiento de mantenimiento. Con todo, su utilidad es indudable, ya que en los protocolos en los que se ha omitido este tratamiento la tasa de recaídas ha sido mayor[13]. En la mayoría de protocolos se efectúa el tratamiento clásicamente administrado en la LAL infantil, que consiste en la combinación de MP diaria (60 a 80 mg/m^2) con MTX semanal (en general, 15 mg/m^2, i.m.), que suele prolongarse hasta los dos años de RC continuada. La intensidad adecuada de dosis de MP y de MTX es importante para reducir el número de recaídas[14]. La administración de ciclos de quimioterapia de reinducción es discutible, y en varios estudios aleatorizados no ha comportado una prolongación de la SLE[5,15].

Es probable que la duración del tratamiento de mantenimiento deba individualizarse en función del tipo de la LAL (puede omitirse en la LAL-B madura) y, sobre todo, de la persistencia de enfermedad residual (ER)[16] (véase más adelante).

TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS (TPH)

En el tratamiento de la LAL del adulto con criterios de «alto riesgo» el TPH debe considerarse como una estrategia de tratamiento de intensificación destinada a eliminar la leucemia residual. Para los adultos con LAL de «riesgo estándar», el TPH debe considerarse como un tratamiento de rescate.

TPH alogénico mieloablativo a partir de un hermano histocompatible

En análisis procedentes de registros multicéntricos (EBMT, ABMT, IBMTR) se ha constatado una mejoría progresiva de los resultados del TPH alogénico a partir de un hermano histocompatible efectuado en primera RC[17]. Ello se debe, sobre todo, a la reducción de la mortalidad relacionada con el trasplante, que en la actualidad es inferior al 20%. A ello han contribuido, entre otros, los avances en la profilaxis y tratamiento de la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH) y el empleo generalizado de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica (PHSP). La probabilidad de recaída se sitúa en el 20-30%. Al igual que ocurre con otras hemopatías, esta tasa es menor en los pacientes que han sufrido una EICH, debido al efecto del injerto contra la leucemia (EICL). La probabilidad de SLE para el TPH alogénico a partir de un hermano HLA idéntico es del 50% en todos los registros multicéntricos (tabla 21.3). Cuando el TPH se efectúa en segunda o ulteriores RC, la tasa de recaídas es mayor (45-50%) y la probabilidad de SLE, más baja (30-35%) (tabla 21.3).

TPH alogénico mieloablativo a partir de donante no emparentado (DNE)

Es una alternativa especialmente indicada en pacientes con LAL de muy alto riesgo (sobre todo, en la LAL Ph+) sin hermano histocompatible. Constituye una opción terapéutica eficaz (tasa de recaídas del 20-25%), en la que el EICL alcanza la máxima expresión[18]. Su mayor inconveniente es la mortalidad ligada al TPH (que, aunque va disminuyendo, todavía es de alrededor del 30%), con lo que la SLE es del 40-50% (tabla 21.3). Recientemente, algunos grupos han comunicado que la SLE es prácticamente idéntica en los TPH a partir de DNE y en los TPH a partir de donante familiar histocompatible[19]. De hecho, en las LAL de muy alto riesgo sin hermano HLA-idéntico se aconseja activar la búsqueda de DNE en el momento del diagnóstico. En el momento actual se está empleando de forma creciente en pacientes adultos la sangre de cordón umbilical (SCU) como fuente de progenitores hematopoyéticos para el TPH, con la ventaja que ello supone en términos de aumento de la probabilidad de hallar un DNE

TABLA 21.3

Probabilidad actuarial de supervivencia libre de enfermedad (SLE) a los 3 años de las distintas modalidades de trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) en la LAL

Tipo TPH (fuente)	Fase	Pacientes (n.°)	SLE (%)
Alogénico hermano	– RC1	1.005	54
HLA-idéntico (IBMTR)	– RC ≥ 2	1.074	40
	– No en RC	418	20
Alogénico hermano	– RC1	409	47
HLA-idéntico (EBMT, a partir de 1992)	– RC ≥ 2	96	35
Autogénico (ABMTR)	– RC1	102	43*
	– RC ≥ 2	228	25*
	– No en RC	27	17*
Alogénico donante no emparentado (NMDP)	– RC1	57	38
	– RC2	113	45
	– RC ≥ 3	94	24
	– Recaída	80	+4

RC1: primera remisión completa; RC ≥ 2: segunda o posteriores remisiones completas; RC ≥ 3: tercera o posteriores remisiones completas; ABMTR: *Autologous Bone Marrow Transplant Registry*; IBMTR: *International Bone Marrow Transplant Registry*; EBMT: *European Group for Bone and Marrow Transplantation*; NMDP: *National Marrow Donor Program*.

adecuado. En datos recientes procedentes de instituciones o de registros, la probabilidad de SLE en los TPH de SCU es prácticamente idéntica a la obtenida con los TPH de DNE[20].

TPH alogénico con acondicionamiento no mieloablativo o de intensidad reducida (AIR)

Constituye una opción terapéutica en fase de investigación en la LAL, en la que se pretende aprovechar el EICL y disminuir la toxicidad del acondicionamiento mieloablativo. Este último hecho lo hace aplicable a pacientes de edad más avanzada (hasta los 65 años) con donante histocompatible. Su eficacia es muy limitada en pacientes en segunda o ulteriores RC, por lo que los estudios de investigación se centran en evaluar su utilidad en pacientes en primera RC, con unos resultados hasta ahora modestos[21].

TPH autogénico

Es una alternativa terapéutica atractiva *a priori*, ya que puede efectuarse a gran cantidad de pacientes (hasta los 65 años de edad o más), debido a que tiene una mortalidad baja (2-8%). Sin embargo, la tasa de recaídas es alta (50-60%), debido a la falta del EICL y a la reinfusión de células leucémicas en el inóculo. Con todo, este último mecanismo debe ser poco importante, habida cuenta que la tasa de recidivas no varía de forma significativa al efectuar una depuración o purgado del producto que se va a infundir. La elevada proporción de recidivas es motivo de que el empleo del TPH autogénico se vaya reduciendo en los modernos protocolos de LAL. La probabilidad de SLE es del 35-40% cuando se efectúa en primera RC, proporción que es claramente inferior (20-25%) si se practica en segunda o ulteriores RC (tabla 21.3)[22].

Para intentar disminuir la elevada tasa de recaídas se han intentado varios procedimientos: el purgado *in vitro* de los PH que se infunden (ya comentado previamente), la administración de tratamiento de mantenimiento después del TPH autogénico (poco eficaz en pacientes con LAL de alto riesgo)[23], la administración de PHSP, que están menos contaminados de células leucémicas (hecho demostrado en la LAL Ph+) y, por último, el doble TPH autogénico o incluso el TPH autogénico seguido de TPH alogénico con acondicionamiento de intensidad reducida. El beneficio del empleo combinado de estas medidas todavía no ha sido demostrado, pero está en fase de investigación activa en el momento actual.

Indicaciones del TPH en pacientes en primera RC

Aunque con el TPH alogénico a partir de un donante histocompatible se logran SLE del 50%, hay que tener presente que los análisis parten de una población seleccionada, que incluye pacientes relativamente jóvenes con LAL en RC, sin tener en cuenta necesariamente los factores pronósticos. Dado que en determinados subgrupos de pacientes con LAL (p. ej., LAL-T, LAL B madura, LAL en pacientes de edad inferior a 30 años y cifra normal de leucocitos) se obtienen resultados similares con pautas de quimioterapia (fig. 21.1), el TPH alogénico estaría indicado en el subgrupo de pacientes con algún factor de mal pronóstico (figs. 21.2 y 21.3)[24]. De hecho, en algunos estudios de casos y controles históricos y en algún protocolo prospectivo se ha demostrado beneficio

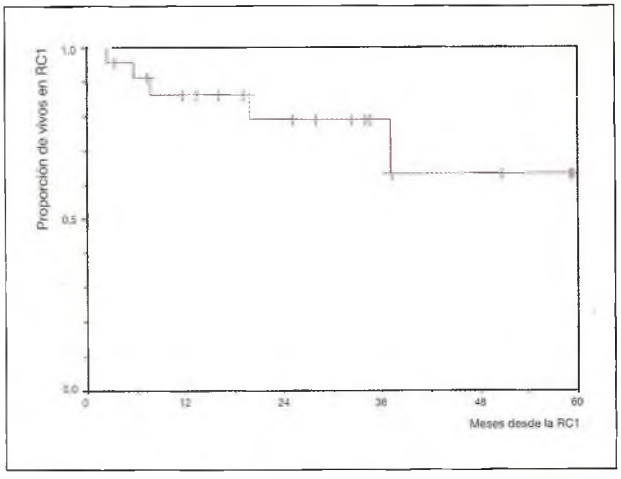


Figura 21.1. Curva actuarial de supervivencia libre de enfermedad (SLE) de la serie de 56 pacientes adultos con LAL de riesgo estándar incluidos en el protocolo PETHEMA LAL-96.

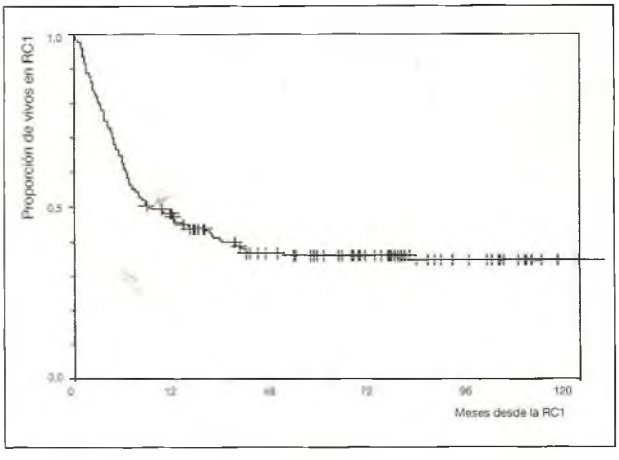


Figura 21.2. Curva actuarial de supervivencia libre de enfermedad (SLE) de la serie de 222 pacientes adultos con LAL de alto riesgo incluidos en el protocolo PETHEMA LAL-93.

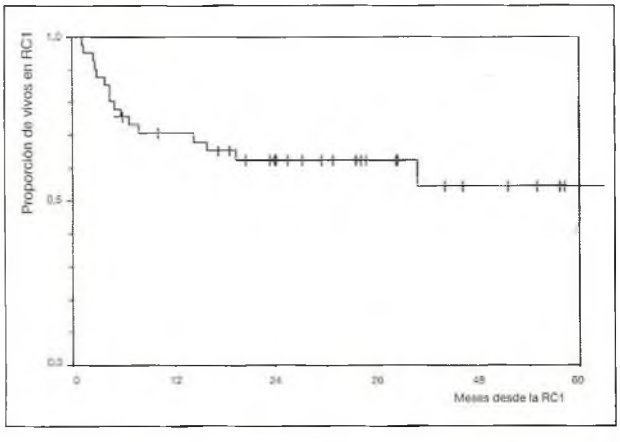


Figura 21.3. Curva actuarial de supervivencia libre de enfermedad (SLE) de la serie de 53 pacientes adultos con LAL3/linfoma de Burkitt incluidos en el protocolo PETHEMA LAL-3/97.

del TPH en el subgrupo de LAL con factores de mal pronóstico, pero este beneficio no se ha demostrado en otros[25-35]. Para los pacientes de muy alto riesgo (como los que sufren una LAL Ph+) sin hermano histocompatible cabe plantearse la posibilidad de efectuar un TPH alogénico a partir de un DNE tan pronto como sea posible[36-40]. El papel del TPH autogénico en el tratamiento de los pacientes en primera RC está por definir, pero podría ser una opción potencialmente útil para los pacientes de edad hasta 65 años o más, sin hermano histocompatible y con LAL con factores de mal pronóstico. A su vez, el TPH con AIR estaría indicado en las LAL en primera RC dentro de ensayos clínicos. En la tabla 21.4 se exponen las indicaciones establecidas en el año 2002 por el EBMT (*European Group for Bone and Marrow Transplantation*) para el TPH en la LAL del adulto[24].

TABLA 21.4

Recomendaciones del *European Group for Bone and Marrow Transplantation* (EBMT) para el trasplante de progenitores hematopoyéticos en la LAL

	Alogénico hermano	DNE	Autogénico
RC-1 (AR)	E	E	PCA
RC-2	E	E	PCA
Recaída incipiente	E	E	PCA
Recaída	PCA	NR	NR
Refractaria	PCA	NR	NR

DNE: donante no emparentado; RC-1: primera remisión completa; RC-2: segunda remisión completa; AR: alto riesgo; E: estándar; PCA: protocolo clínico aprobado; NR: no recomendado.

ENFERMEDAD RESIDUAL Y TRATAMIENTO EN LA LAL DEL ADULTO

En la actualidad todos los protocolos terapéuticos de la LAL en el adulto incorporan el estudio de la ER, ya sea mediante técnicas de biología molecular o de citofluorometría. Aunque el valor pronóstico del estudio de la ER no está tan sólidamente establecido como en la LAL infantil, parece que en los adultos es más importante la cinética de reducción de la ER a lo largo del tratamiento que la determinación de la ER exclusivamente al final de la inducción. De esta forma, los pacientes con bajos valores de ER (inferiores a 10^{-4}) después del tratamiento de inducción y a lo largo del tratamiento de consolidación/intensificación, tendrían una baja probabilidad de recidiva, mientras que la detección repetida de valores elevados de ER en algún punto del tratamiento comportaría un riesgo elevado de recidiva. Con todo, cabe señalar que el estudio de la ER debe efectuarse en el contexto de protocolos terapéuticos concretos, e incluso en subgrupos concretos de enfermos (p. ej., LAL de línea B, LAL-T) para que tenga implicaciones terapéuticas, por lo que debe considerarse todavía en fase de investigación en la LAL del adulto[41-43]. Sin embargo, la utilidad de su estudio está fuera de toda duda en determinados subtipos de LAL, como la que presenta reordenamiento *BCR/ABL* y, muy probablemente, la que expresa el reordenamiento *ALL/AF4*.

TRATAMIENTO DE LA LAL RESISTENTE O EN RECAÍDA

Los pacientes en los que la LAL es resistente al tratamiento o bien sufren una recaída tienen un pronóstico muy desfavorable. No existen opciones de tratamiento de segunda línea verdaderamente eficaces para la LAL del adulto refractaria o en recaída[44]. La readministración del mismo tratamiento de inducción o de pautas similares comporta una tasa de RC del 60-70%, pero es de corta duración. Recientemente, se están ensayando pautas utilizadas en las leucemias agudas mieloblásticas o en los síndromes mielodisplásicos de alto riesgo (idarrubicina, ARA-C, fludarabina), con resultados aceptables en lo que respecta a la frecuencia de RC (aunque con un alto coste tóxico), pero éstas son, de nuevo, de corta duración (en general, inferior a 6 meses), con una probabilidad de SLE prolongada inferior al 5%. Por tanto, en estos pacientes la quimioterapia de inducción debe contemplarse únicamente como un tratamiento previo al TPH, preferentemente alogénico (tabla 21.4).

TRATAMIENTO DE LAS FORMAS ESPECIALES DE LA LAL

LAL B madura (Burkitt-*like*)

La incidencia de este subtipo de LAL en el adulto es muy baja (3-5%). El tratamiento con las pautas mencionadas hasta ahora no ha proporcionado resultados satisfactorios. En el momento actual, los tratamientos de esta variedad de LAL en el adulto se han adaptado a partir de los protocolos pediátricos (véase el capítulo correspondiente). Los fármacos esenciales son la CFM o la ifosfamida en altas dosis y fraccionada, el MTX en dosis elevadas con rescate con ácido folínico y las ADAC, administrados en forma de ciclos frecuentes a lo largo de 6 meses[45,46]. Es esencial la profilaxis de la leucemia en el SNC. En estos pacientes es muy importante prevenir (o tratar, en su caso) el síndrome de lisis tumoral que se produce por la destrucción masiva de linfoblastos. Esta profilaxis incluye hiperhidratación, alcalinización urinaria, diuresis forzada y agentes que destruyen rápidamente los uratos, como la rasburicasa. La tasa de RC con estos protocolos es del 75-85%, y la probabilidad de SLE prolongada es de alrededor del 50-60% (tabla 21.5). No es necesario el tratamiento de mantenimiento, ya que las recaídas más allá de los 6 meses de RC mantenida son muy poco habituales en esta variedad de LAL. En vista de los resultados actuales, no se considera indicado efectuar de forma sistemática un TPH en primera RC, aunque podría considerarse en los pacientes con respuesta lenta al tratamiento, edad algo avanzada e hiperleucocitosis. En estudios recientes se están obteniendo resultados muy prometedores con la combinación de quimioterapia con el anticuerpo monoclonal anti-CD20 (rituximab)[47].

LAL con cromosoma Filadelfia (*BCR-ABL*)

La prevalencia de la LAL Ph+ (con reordenamiento *BCR-ABL*) en el adulto es del 20-25%, y aumenta con la edad (hasta el 40% en enfermos de más de 50 años). La tasa de RC logradas con las pautas convencionales de tratamiento es del 60% y, en general, tiene una duración muy corta (inferior a 9 meses)[48-51]. El empleo de ADAC no ha mejorado los resul-

TABLA 21.5

Resultados de la quimioterapia en la LAL3/LB en adultos, publicados entre 1994 y 2004

Autor	Año	Número de casos	RC (%)	Duración RC/SLE (%) (años)	Supervivencia (%) (años)
Patte	1994	17	76	–	58 (5)
Longo	1994	25	65	61 (15)	35 (15)
Willemze	1995	11	63	60 (5)	–
Soussain	1995	65	89	71 (3)	74 (3)
Preudhomme	1995	23	69	–	–
Daliani	1995	13	85	46 (5)	
López	1996	44	80	60 (5)	52 (5)
Divine	1996	52	85	47 (5)	53 (5)
Lerede	1996	34	62	49 (10)	–
Hoelzer	1996	24	63	50 (8)	49 (8)
		35	74	71 (4)	51 (4)
Lee	1997	24	75	66 (3)	–
Magrath	1998	26	92	84 (1)	–
Thomas	1999	26	81	61 (3)	49(3)
Lee	2001	54	80	50 84)	52 (4)
LaCasce	2002	14	86	72 (2)	–
Mead	2002	52	75	65 (2)	73 (2)
Cabanillas	2003	20	89	86 (1)	–
Oriol	2003	53	77	60 (2)	51 (2)
Nicola	2004	22	77	73 (2)	77 (2)

LAL3: leucemia aguda linfoblástica tipo L3; LB: linfoma de Burkitt; RC: remisión completa; SLE: supervivencia libre de enfermedad.

tados. En el momento actual, el tratamiento más prometedor, aunque en el contexto de ensayos clínicos, consiste en la administración de quimioterapia e imatinib mesilato, con lo que se consiguen tasas de RC del 90-95%, sin una mayor toxicidad adicional, y con posibilidad de desaparición de la enfermedad a nivel molecular en el 20-40% de casos al final de la inducción (tabla 21.6)[52-54]. Este tratamiento debe ir seguido de consolidación con quimioterapia (MTX y ARA-C en altas dosis) e imatinib, seguido de TPH alogénico (de familiar HLA-idéntico o de donante no emparentado) tan pronto como sea posible. Con esta estrategia se están refiriendo tasas de SLE del 60%, impensables hace unos años. Está en fase de evaluación la administración de imatinib después del TPH, especialmente si hay ER detectable.

LAL con reordenamientos 11q23 (*MLL*)

Las LAL con reordenamientos que afectan a la región 11q23, (de los que el más frecuente es la t[4;11], con reordenamiento *ALL/AF1*) son poco frecuentes en el adulto (menos del 10% de casos). Presentan un fenotipo pro-B, con frecuente expresión de marcadores mieloides. Se consideran LAL de alto riesgo, por lo que su tratamiento debe basarse en quimioterapia seguida de TPH alogénico en primera RC.

TABLA 21.6

Resultados de cuatro estudios de quimioterapia e imatinib en LAL Ph-positiva de nuevo diagnóstico

	MD Anderson	JALSG	GMALL	PETHEMA/GETH
Pacientes	15	24	24	19
Remisión completa (%)	15/15 (100%)	23/24 (96%)	23/24 (96%)	16/18 (88%)
Respuesta molecular al final de la inducción	5/15 (33%)	5/18 (28%)	NE	4/11 (36%)
TPH practicado (%)	50%	63%	NE	40%
Mediana seguimiento (meses)	20 (4-24)	12	NE	5 (1-14)
Probabilidad SLE	80%*	68%**	NE	46%**
Probabilidad SG	62%	89%	NE	66%

JALSG: Japan Adult Leukemia Study Group; GMALL: German Multicenter Adult Lymphoblastic Leukemia; PETHEMA: Programa para el Estudio y Tratamiento de las Hemopatías Malignas; GETH: Grupo Español de Trasplante Hematopoyético; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos; SLE: supervivencia libre de enfermedad; SG: supervivencia global; NE: no especificada.
*Supervivencia libre de enfermedad.
**Supervivencia libre de evento.

LAL de línea T

La CFM y el ARA-C se consideran fármacos esenciales en las pautas de tratamiento de inducción y consolidación de la LAL-T. Dado el alto riesgo de recidiva en el SNC es necesaria la administración de MTX y ARA-C en altas dosis, tratamiento intratecal y, para algunos autores, radioterapia holocraneal. Diversos grupos han constatado que la LAL-T constituye, en realidad, una enfermedad heterogénea que incluye formas inmaduras (pro-T y pre-T), de diferenciación intermedia (tímica cortical) y maduras (tímica madura)[55]. Aunque las características clínicas son similares en los tres grupos, en algunos estudios el pronóstico es peor para las formas inmaduras y maduras, para las que algunos grupos indican TPH alogénico en primera RC. En las moléculas se ha detectado la expresión de diversos oncogenes (*HOX11, TAL1, LYL1, LMO1, LMO2*). La expresión aumentada de *HOX11* parece asociarse con un mejor pronóstico. En las LAL-T se está investigando la actividad de nuevos fármacos, como análogos de las purinas (cladribina), el anticuerpo monoclonal anti-CD52 (Campath 1H) o el profármaco del ARA-G 506U78 o nelarabina.

LAL en pacientes de edad avanzada

En los enfermos de edad avanzada, la LAL tiene un pronóstico muy desfavorable, lo que se debe sobre todo a la alta frecuencia de características que confieren a la LAL un mal pronóstico (LAL Ph+, sobre todo) y a la mayor toxicidad del tratamiento de inducción, que determina una tasa de mortalidad en inducción superior al 20%. La probabilidad de SLE prolongada es inferior al 10%[56,57]. En la actualidad, las opciones de tratamiento eficaces son escasas. La mayoría de grupos optan por efectuar un tratamiento de inducción con toxicidad escasa (p. ej., VCR, DNR y PDN) y, una vez el enfermo se halla en RC, administrar una terapia de consolidación más intensiva, que podría incluir el TPH autogénico o un TPH alogénico con AIR en los pacientes de edad inferior a 65 años y buen estado general[58]. En los pacientes con LAL Ph+ se están obteniendo resultados muy esperanzadores mediante tratamiento de inducción con imatinib exclusivamente, seguido de consolidación con quimioterapia e imatinib.

ESTRATEGIAS DE TRATAMIENTO EN FASE DE INVESTIGACIÓN

Después de una etapa de varias décadas sin opciones terapéuticas más eficaces que la quimioterapia convencional, en el momento actual se está investigando activamente con nuevos agentes en el tratamiento de la LAL, con resultados prometedores. Entre ellos destaca el imatinib mesilato para las LAL con reordenamientos *BCR-ABL*, ya comentado[52-54], al que siguen otros inhibidores de las tirosincinasas de mayor potencia, en fase de investigación. Otro grupo de fármacos en investigación en ensayos clínicos son los anticuerpos monoclonales, como el anti-CD20 (rituximab), (con resultados muy prometedores en la LAL Burkitt-*like*)[47], el anti-CD19, anti-CD22 (epratuzumab), anti-CD33 (gentuzumab ozogamicina) o el anti-CD52 (Campath-1H). Para las LAL-T se están llevando a cabo ensayos clínicos con el anti-CD52 (Campath-1H) o con el profármaco del ARA-G (506U78 o nelarabina), con resultados prometedores en casos de recaída o resistencia.

En el campo del TPH se está asistiendo al empleo cada vez más generalizado de los TPH a partir de DNE, incluyendo el empleo de PH de SCU, a la investigación de mejores pautas de acondicionamiento (con el empleo de radioinmunoconjugados) o a la utilización de estrategias de AIR. Para los pacientes con ER presente tras el TPH se está evaluando la infusión de linfocitos del donante, antes de que exista recaída clínicamente evidente.

Por último, los conocimientos biológicos en la LAL tienen, o van a tener en un futuro muy próximo, implicaciones esenciales para el tratamiento. Como ya se ha comentado, cada vez hay menos dudas sobre el valor que tiene la determinación de la ER para monitorizar la respuesta y decidir las opciones terapéuticas en la LAL infantil, y ello también parece ser cierto para la LAL del adulto. Los avances en genética molecular, con la tecnología de los *microarrays* (micromatrices) permitirán la identificación de nuevos factores pronósticos[59] y la identificación de nuevas dianas genéticas para el tratamiento[60]. Tampoco hay que olvidar los avances en farmacogenética y farmacogenómica, que probablemente determinarán una administración mucho más eficaz e individualizada de los fármacos utilizados para el tratamiento de la LAL.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hoelzer D. Acute lymphoblastic leukemia in adults. En: Degos L, Linch DC, Löwenberg B, eds. Textbook of malignant hematology. Londres: Martin Dunitz, 1999; 539-562.
2. Kebriaei P, Larson RA. Progress and challenges in the therapy of adult acute lymphoblastic leukemia. Curr Opin Hematol 2003; 10: 284-289.
3. Faderl S, Kantarjian HM, Talpaz M, Estrov Z. Clinical significance of cytogenetic abnormalities in adult acute lymphoblastic leukemia. Blood 1998; 91: 3995-4019.
4. Hoelzer D, Göckbuget N. New therapeutic options in adult ALL. The Hematology J 2003; 4 (Suppl 3):128-138.
5. Thomas X, Boiron JM, Huguet F, Dombret H, Bradstock K, Vey N, et al. Outcome of treatment of adults with acute lymphoblastic leukemia: analysis of LALA-94 trial. J Clin Oncol. Published ahead of print on September 7, 2004 as 10.1200/JCO.2004.10.050.
6. Todeschini G, Tecchio C, Meneghini V, Pizzolo G, Veneri D, Zanotti R et al. Estimated 6-year event-freee survival of 55% in 60 consecutive adult acute lymphoblastic leukemia patients treated with an intensive phase II protocol based on high induction dose of daunorrubicin. Leukemia 1998; 12:144-149.
7. Larson RA, Dodge RK, Linker CA, Stone RM, Powell BL, Lee EJ, et al. A randomised controlled trial of filgrastim during remission and consolidation chemotherapy for adults with acute lymphoblastic leukemia: CALGB study 9111. Blood. 1998; 92:1556-1564.
8. Kantarjian HM, O'Brien S, Smith TL, Cortes J, Giles FJ, Beran M, et al. Results of treatment with hyper-CVAD, a dose- intensive regimen in adult acute lymphocytic leukemia. J Clin Oncol 2000; 18:547-561.
9. Hoelzer D, Theiel E, Ludwig WD. Follow-up of the first two successive German multicentre trials for adult ALL (01/81 and 02/84). German Adult ALL Study Group. Leukemia 1993; 7 (Suppl 2):S130-134.
10. Durrant IJ, Prentice HG, Richards SM. Intensification of treatment for adults with acute lymphoblastic leukaemia: results of UK Medical Research Council randomized trial UKALL XA. Br J Haematol 1997; 99:84-92.
11. Annino L, Vegna ML, Camera A, Specchia G, Visani G, Fioritoni G, et al. Treatment of adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): long-term follow-up of the GIMEMA ALL 0288 randomized study. Blood 2002; 99:861-863.

CAPÍTULO 22

Tratamiento de la leucemia mieloide aguda del adulto

J. Sierra

ÍNDICE

Introducción
Selección del tratamiento y evaluación de la respuesta
Tratamiento de inducción a la remisión
- Pauta estándar
- Cambio de antraciclina
- Modificación de la dosis de ara-C
- Adición de otros agentes

Quimioterapia del enfermo en remisión
Trasplante de progenitores hematopoyéticos
- Fundamento y tipos de trasplante
- Trasplante hematopoyético *vs* quimioterapia

Factores pronósticos
Tratamiento de la leucemia refractaria o en recaída
Tratamiento en situaciones especiales
- Leucemia promielocítica aguda
- Leucemia mieloide aguda en pacientes de edad avanzada
- Leucemia mieloide aguda durante el embarazo
- Leucemia mieloide aguda posmielodisplasia y secundaria

Medidas complementarias de tratamiento
- Prevención del síndrome de lisis tumoral
- Profilaxis del sistema nervioso central
- Factores estimulantes de colonias hematopoyéticas

Terapéutica en fase de investigación
Bibliografía

INTRODUCCIÓN

En la pasada década y en los primeros años del nuevo siglo se ha avanzado en la caracterización de los distintos tipos de leucemia mieloide aguda (LMA), por medio de técnicas cada vez más precisas y novedosas. Del mismo modo, se ha progresado en el conocimiento de la fisiopatología molecular de esta enfermedad, y se han identificado factores pronósticos clínicos y biológicos. Ello permite, en la actualidad, un tratamiento más eficaz e individualizado. En la leucemia promielocítica aguda (LPA), la introducción del ácido all-transretinoico (ATRA) y del trióxido de arsénico hace posible alcanzar la remisión completa (RC) sin tratamiento citotóxico. En el resto de LMA, se ha procurado definir la pauta de quimioterapia estándar para alcanzar la RC, se han analizado diferentes modalidades de tratamiento que pretenden perpetuarla y se han utilizado parámetros pronósticos para decidir entre unas y otras opciones. El trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) se ha desarrollado especialmente, con la introducción de fuentes alternativas a la médula ósea, como la sangre periférica o las células de cordón umbilical, la ampliación del espectro de donantes a los no emparentados y el diseño de trasplantes con toxicidad atenuada, con tratamiento de preparación de intensidad reducida.

SELECCIÓN DEL TRATAMIENTO Y EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA

La primera decisión que se debe tomar en un paciente con LMA es la de valorar si es tributario de tratamiento intensivo o si, por el contrario, sólo están indicadas medidas paliativas. Pese a los progresos en el soporte transfusional y en el tratamiento de las infecciones, los enfermos que sólo reciben medidas paliativas fallecen poco tiempo después del diagnóstico[1] (fig. 22.1). En general, a no ser que exista una contraindicación clara, debe optarse por el tratamiento intensivo.

El primer objetivo del tratamiento de la LMA es la obtención de la RC. En esta situación no existe evidencia clínica ni morfológica de enfermedad y los parámetros hemoperiféri-

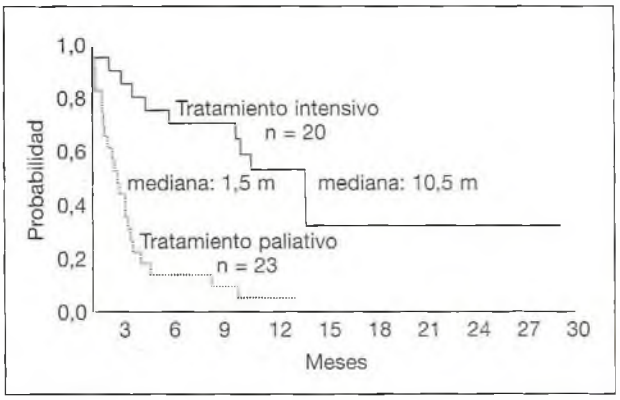


Figura 22.1. Tratamiento paliativo o intensivo en la leucemia mieloide aguda en pacientes de edad avanzada (Hernández-Boluda et al)[1].

cos son normales. En estado de RC, la cantidad de células leucémicas se estima que disminuye desde 10^{12} a una cifra entre 10^{10} y 10^{9}. Esta leucemia residual puede detectarse con métodos más sensibles que la microscopia óptica, como la citometría de flujo o técnicas moleculares (fig. 22.2). Los criterios actualizados de respuesta al tratamiento se han publicado recientemente y contemplan posibilidades no recogidas anteriormente (tabla 22.1)[2]. Además, dichos criterios tienen en cuenta los métodos actuales para evaluar la respuesta, más allá del análisis morfológico.

El esquema general de tratamiento de los pacientes con LMA aparece en la figura 22.3. El tratamiento utilizado para alcanzar la RC se denomina quimioterapia de inducción e incluye dos o tres fármacos[3]. Una vez en remisión, pueden administrarse los mismos agentes, en igual dosis o en dosis atenuada. Esta quimioterapia se denomina de consolidación, y pretende reducir todavía más la cantidad de células leucémicas, con fármacos que se han mostrado eficaces durante la inducción. Otra etapa posterior a la obtención de la RC, con consolidación o sin ella, es el tratamiento de intensificación, de gran importancia. La intensificación incluye como agente fundamental el arabinósido de citosina (ara-C o citarabina) en dosis intermedia o alta, si se compara con la administrada durante la inducción. Este fármaco se administra solo o junto con otros citotóxicos, en general del grupo de las antraciclinas. La intensificación suele durar de 4 a 6 días, y los ciclos se administran de una a tres veces, sin que esta fase se extienda más allá de 4-6 meses. La terapia de los

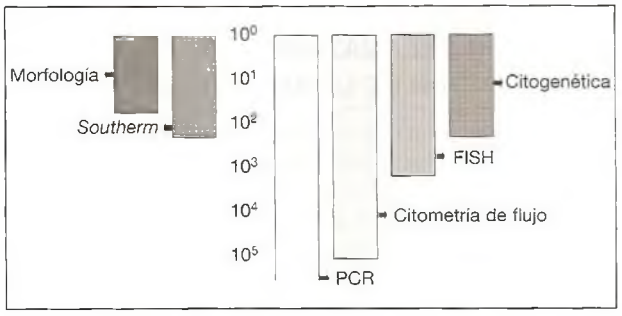


Figura 22.2. Sensibilidad de los métodos de estudio de la enfermedad residual mínima aplicables en la leucemia mieloide aguda (cortesía de J. Román). FISH: hibridación *in situ* fluorescente; PCR: reacción en cadena la polimerasa.

pacientes alcanza las dosis máximas tolerables si después de la consolidación o de la intensificación se efectúa un TPH. Otra opción, mucho menos intensiva y de eficacia controvertida en las LMA, es la terapia de mantenimiento. Ésta incluye en general fármacos, en dosis moderadas, que el paciente recibe cada 4-6 semanas durante 1-2 años.

TRATAMIENTO DE INDUCCIÓN A LA REMISIÓN

Pauta estándar

Las pautas de quimioterapia de inducción a la RC incluyen en la actualidad un fármaco de la familia de las antraciclinas, y el ara-C (tabla 22.2)[3]. El tratamiento estándar consiste en 3 días de daunorubicina (DNR), 45 a 60 mg/m^2/día endovenosa (e.v.) y 7 días de ara-C, 100 mg/m^2/día en perfusión continua (esquema 3 × 7). La tasa de RC alcanzada con esta combinación se sitúa en el 65-75% para el conjunto de pacientes, y es un 15% inferior si se consideran sólo los pacientes de más de 65 años. Las modificaciones de la pauta estándar consisten en sustituir la DNR por otro citotóxico, modificar la dosis de ara-C o añadir un tercer fármaco[4].

Cambio de antraciclina

Hace pocos años se publicó un análisis conjunto de las cinco series que compararon DNR e idarrubicina (IDR)[5]. Con un total de 1.052 enfermos, se observó una mayor proporción de RC con IDR que con DNR (62 *vs* 53%), así como beneficio en supervivencia (SRV) a los 5 años. Estos efectos favorables disminuyeron a medida que aumentó la edad de los pacientes. Por el contrario, otros autores defienden que la tasa de RC es la misma con IDR que con DNR, y argumentan que la ventaja observada con la primera se debe a que no se compararon dosis equivalentes. Así, el único estudio que ha comparado 12 mg/m^2 de IDR con 60 mg/m^2 de DNR ha mostrado igual frecuencia de RC en ambas[4]. En el mismo sentido, el grupo EORTC-GIMEMA ha comparado DNR, mitoxantrona (MTN) e IDR, asociadas con ara-C y etopósido, sin observar diferencias significativas en RC según la antraciclina y con mejor cumplimiento del plan terapéutico en los pacientes que recibieron DNR (Amadori S, comunicación personal).

Modificación de la dosis de ara-C

El CALGB analizó los resultados de 7 *vs* 10 días de ara-C sin observar ventajas con esta última pauta. Tampoco fue de utilidad aumentar la dosis de ara-C de 100 a 200 mg/m^2/día durante 7 días. El grupo de la Universidad de Los Angeles (UCLA) observó una proporción similar de RC con 200 mg/m^2 y con 500 mg/m^2 (dosis intermedia) de ara-C, asociadas con DNR. En dos estudios se ha analizado el valor de las altas dosis de ara-C (ADAC) frente a la dosis convencional. El primero de estos estudios, del *Australian Leukemia Study Group* (ALSG), comparó 7 días de ara-C 100 mg/m^2/día en infusión continua con 4 días de 3 g/m^2 cada 12 horas. Este tratamiento se asoció con DNR (50 mg/m^2, 3 días) y VP16 (75 mg/m^2, 7 días). La tasa de RC fue la misma con las dos pautas, y las dosis altas originaron mayor toxicidad hematológica y extrahematológica, sobre todo gastrointestinal y neu-

TABLA 22.1

Valoración de la respuesta al tratamiento de la LMA (Cheson et al[2])

Definición	Día valoración	Médula ósea (MO)	Sangre (SP)	Comentarios
Respuesta precoz	14-17 desde inicio QT	Hipoplásica (blastos?)	Pancitopenia extrema	Valoración de quimiosensibilidad
Ausencia morfológica de leucemia	Variable (habitualmente 28-35)	Grumo con celularidad y < 5% blastos (recuento en > 200 células)	Citopenias	Ausencia de bastones de Auer. Se recomienda repetición del aspirado en una semana
Remisión completa morfológica	Habitualmente 28-35	Grumo con celularidad y < 5% blastos (recuento en > 200 células)	> 1.000/mL neutrófilos y > 100.000/mL plaquetas	Ausencia de bastones de Auer. Sin transfusiones de hematíes Ausencia de displasia, si había inicialmente No se exige duración de la respuesta
Remisión completa citogenética	Variable (habitualmente 28-35)	Grumo con celularidad y < 5% blastos (recuento en > 200 células) Desaparición de las alteraciones citogenéticas previas (convencional o FISH)	> 1.000/mL neutrófilos y > 100.000/mL plaquetas	Ausencia de bastones de Auer Sin transfusiones de hematíes Ausencia de displasia, si había inicialmente
Remisión completa molecular	Variable (habitualmente 28-35)	Grumo con celularidad y < 5% blastos (recuento en > 200 células) Desaparición de las alteraciones previas moleculares y por citometría multidimensional	> 1.000/mL neutrófilos y > 100.000/mL plaquetas	Ausencia de bastones de Auer Sin transfusiones de hematíes Ausencia de displasia, si había inicialmente
Remisión completa morfológica con recuperación hematológica incompleta (RCp)	Variable (habitualmente 28-35)	Grumo con celularidad y < 5% blastos (recuento en > 200 células)	Recuperación pero < 1.000/mL neutrófilos y < 100.000/mL plaquetas	Ausencia de bastones de Auer Sin transfusiones de hematíes Ausencia de displasia, si había inicialmente
Remisión parcial	Variable	Grumo con celularidad y > 50% reducción en blastos (hasta valores de 5-25%)	> 1.000/mL neutrófilos y > 100.000/mL plaquetas	Si existen dudas con blastos de regeneración medular, repetir el aspirado en varias semanas
Fracaso terapéutico	Variable	Con o sin blastos según el tipo de fracaso	Habitualmente con citopenias	Tipos: Resistencia Muerte en aplasia Indeterminado
Recaída	Variable	Normal o reaparición de displasia y/o > 5% blastos	Normal o blastos en SP	O bien MO y SP en remisión pero leucemia extramedular. Posible recidiva citogenética o molecular aislada

rológica. Los resultados fueron mejores en el grupo de ADAC, tanto en duración de la RC (mediana de 46 meses *vs* 12 meses) como en supervivencia libre de enfermedad (SLE) a los 5 años (48 *vs* 25%), así como en tendencia a SRV más favorable[6]. Por su parte, el *South West Oncology Group* (SWOG) de Estados Unidos utilizó 2 g/m^2 cada 12 horas de ara-C, 6 días, o 100 mg/m^2, 7 días, junto con DNR 45 mg/m^2, 3 días. La proporción de RC fue similar con las dos pautas y la SLE fue más favorable en el grupo de ADAC, sin que ello supusiera ventaja en SRV global[7]. Por tanto, el empleo de ADAC no parece aumentar la tasa de RC pero puede mejorar su calidad, ya que la SLE es más favorable que si se administra una dosis convencional. Con todo, su mayor toxicidad, la ausencia de beneficio en SRV global y el hecho de que las ADAC se utilizan como intensificación en la mayoría de pacientes, hacen que no se haya incorporado a la pauta estándar de inducción a la remisión en la LMA.

Adición de otros agentes

Los grupos ALSG, EORTC-GIMEMA, MRC y el grupo español CETLAM han publicado resultados con etopósido junto con esquemas con una antraciclina y ara-C en dosis convencional o intermedia[8-10]. En el estudio del MRC se administró

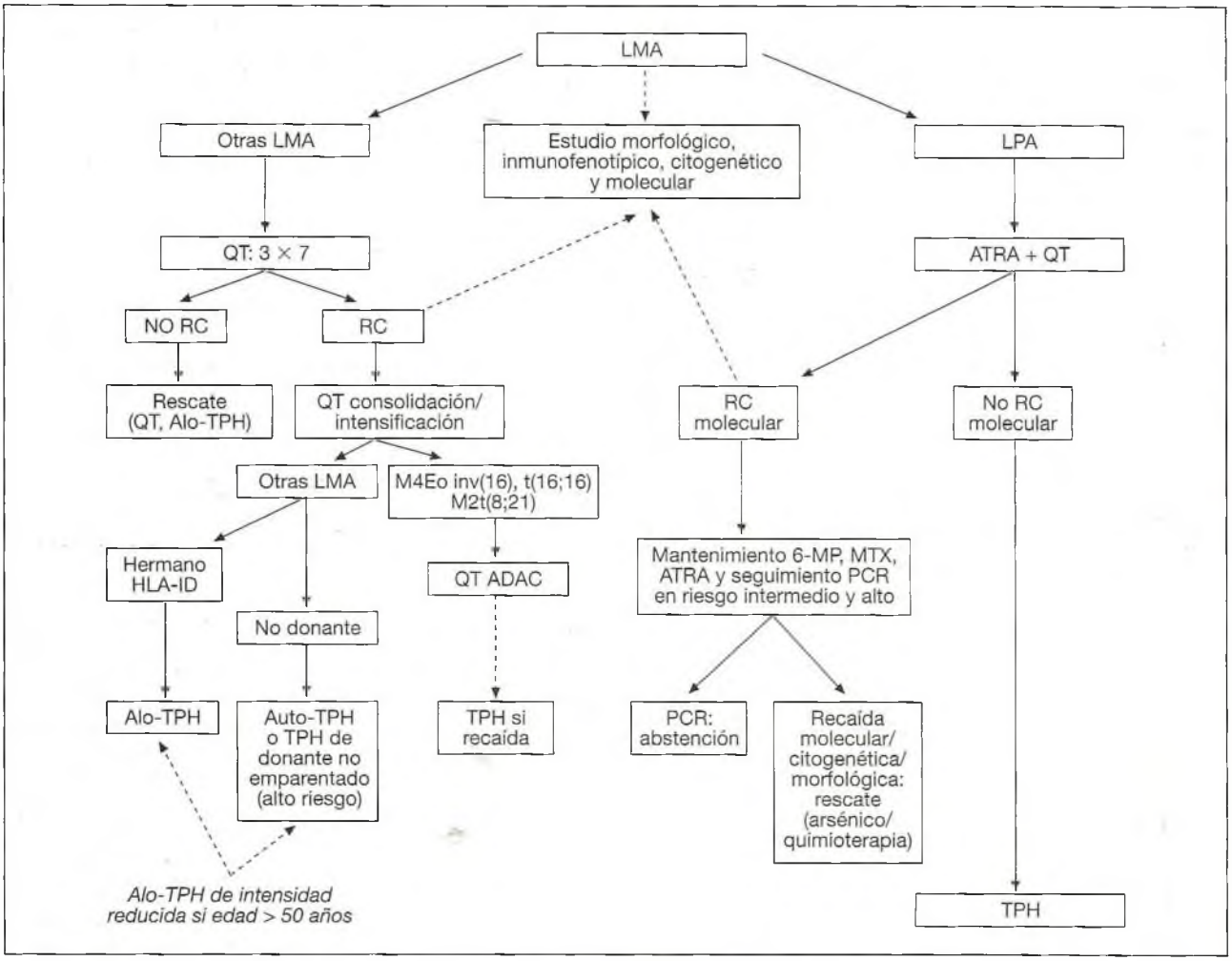


Figura 22.3. Algoritmo terapéutico en la LMA.

TABLA 22.2

Pautas de quimioterapia de inducción y resultados del tratamiento

Esquema	Fármacos (dosis)	Días	RC (%)	RC con 1 ciclo (%)
DA	Daunorubicina (45 a 60 mg/m^2)	3	55-70	36-45
	Ara-C (100 o 200 mg/m^2)	7 o 10		
DAT	Daunorubicina (50 mg/m^2)	3	55-70	36-45
	Ara-C (100 mg/m^2)	7		
	6-tioguanina (100 mg/m^2)	3		
DAE	Daunorubicina (60 mg/m^2)	3	70-75	47
	Ara-C (100 mg/m^2)	7		
	VP16 (100 mg/m^2)	3		
IC	Idarrubicina (12 mg/m^2)	3	65-80	52-64
	Ara-C (100 o 200 mg/m^2)	7		
ICE	Idarrubicina (10 o 12 mg/m^2)	3	75	62
	Ara-C (100 mg/m^2)	7 o 10		
	VP16 (100 mg/m^2)	3 o 5		
IDICE	Idarrubicina (12 mg/m^2)	3	75	80
	Ara-C (1 g/m^2)	4		
	VP16 (100 mg/m^2)	3		

también tioguanina en la rama de DA[10]. El ALSG observó una ligera mejora en la SLE al añadir el tercer agente. En los estudios de la EORTC-GIMEMA y CETLAM no hubo grupo control sin antraciclina. Ya que la necesidad de añadir etopósido se considera un tema por resolver, el grupo MRC en su estudio actual AML-15 investiga la pauta DAE (daunorubicina, ara-C, etopósido) frente a DA y al tratamiento con FLAG-IDA[11]. Esta última combinación incluye fludarabina, y es eficaz como tratamiento de enfermos en recaída[12]. El estudio del MRC tiene el interés adicional de analizar el papel del anticuerpo monoclonal Mylotarg® (ani-CD33/calicheamicina) junto al resto del tratamiento. Otros grupos investigan diversas modalidades de terapia complementaria a la de inducción con fármacos citotóxicos, como agentes antisentido, inhibidores de FLT3, inhibidores de RAS o sustancias desmetilantes, junto con la pauta con DA.

QUIMIOTERAPIA DEL ENFERMO EN REMISIÓN

Tanto la consolidación, con la misma pauta de la inducción o en menor dosis, como el mantenimiento, prolongan la mediana de duración de la RC y la SLE, pero no ofrecen ventajas en la SRV global. Una modalidad de tratamiento posremisión muy popular a principios de la década de 1980 fue la quimioterapia intensiva secuencial. Se trataba de ciclos de quimioterapia que originaban aplasia, en general breve, con múltiples fármacos utilizados de forma rotatoria para evitar la aparición de resistencias. La pauta más utilizada fue la denominada VAPA y sus modificaciones, que en experiencias en Estados Unidos y también en España[13] permitieron SLE prolongadas próximas al 40%, cifras no alcanzadas hasta el momento con otras formas de quimioterapia de la LMA.

Los ciclos de intensificación son el tipo de quimioterapia posremisión más utilizado en los enfermos de hasta 60-65 años de edad. En general, incluyen ADAC (entre 1,5 y 3 g/m^2, una dosis cada 12 horas de 3 a 6 días) o con menor frecuencia ara-C en dosis intermedia (0,5-1,5 g/m^2 cada 12 horas, 4 a 6 días). Es habitual administrar, además, una antraciclina o VP16, aunque es probable que ello no suponga beneficio alguno respecto a utilizar ADAC solo (tabla 22.3). No está definido el número óptimo de ciclos de intensificación, que suele ser de uno a cuatro. Datos recientes sugieren que el ADAC, en ciclos repetidos, está especialmente indicado en la LMA con alteraciones citogenéticas favorables y es de menor utilidad en el resto de pacientes[14].

El trabajo que ha reflejado con mayor claridad el efecto de las ADAC para prolongar la duración de la RC y mejorar la SLE es el publicado en 1994 por el CALGB[15]. En dicho estudio, que incluyó 596 pacientes en RC, se comparó de modo aleatorio tres dosis de ara-C: 100 mg/m^2, 400 mg/m^2 y 3 g/m^2/12 horas. El ADAC se suministró los días 1, 3 y 5, y los otros dos grupos recibieron tratamiento 5 días consecutivos. Se administraron cuatro ciclos, después de lo cual los enfermos de los tres grupos recibieron otros cuatro ciclos de ara-C (100 mg/m^2/12 horas, s.c., 5 días) y DNR (5 mg/m^2, 1 día). Debido a una frecuencia elevada de toxicidad en el sistema nervioso central con el uso de ADAC en los mayores de 60 años, la aleatorización se limitó posteriormente a los pacientes menores de esa edad. En este grupo de enfermos, la probabilidad de SLE a los 4 años fue significativamente mejor en el grupo de ADAC (44%), que en el de 400 mg/m^2 (29%) o en el de 100 mg/m^2 (21%).

TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

Fundamento y tipos de trasplante

El tratamiento posremisión alcanza su máxima intensidad cuando se lleva a cabo un TPH. La quimioterapia y/o radioterapia administrada como preparación o acondicionamiento tiene una gran actividad antileucémica, pero también una elevada toxicidad sobre la médula ósea, que originaría una aplasia muy prolongada o definitiva. Para evitarla, es preciso administrar progenitores hematopoyéticos, de médula ósea, sangre periférica o sangre de cordón umbilical, que no se hayan sometido al efecto del acondicionamiento. Éstos pueden ser del propio paciente (trasplante autólogo, autogénico o autotrasplante [auto-TPH]), de un gemelo univitelino (trasplante singénico o isogénico) o de otra persona, lo que se denomina trasplante alogénico o alotrasplante (alo-TPH). En el caso del trasplante alogénico, al efecto antileucémico del acondicionamiento hay que añadir el proporcionado por el injerto, que tiene celularidad inmunocompetente capaz de erradicar la enfermedad residual neoplásica. Este último fenómeno se conoce como reacción del injerto contra la leucemia (RIL), y justifica en gran parte la menor frecuencia de recaídas después de alo-TPH que de auto-TPH. Este último tratamiento tiene la desventaja de que el producto que se trasplanta puede contener células neoplásicas que favorezcan una recaída leucémica posterior. Para evitar esta posibilidad, cabe efectuar tratamiento *ex vivo* con citostáticos o anticuerpos monoclonales de la celularidad recogida. Con todo, el impacto clínico de llevar a cabo este tratamiento está por demostrar. Es un requisito para realizar con éxito un alo-TPH el que donante y receptor sean HLA-compatibles, a ser posi-

TABLA 22.3

Resultados de la quimioterapia de intensificación

Autor*	Intensificación	Pacientes	Edad (mediana)	RC a los 5 años (%)	Muerte tóxica (%)
Wolff	DNR/ADAC	87	38	49	5
Champlin	DNR/ADAC	56	47	32	6
Cassileth	AMSA/ADAC	199	44	12	NE
Mayer	ADAC	187	43	38	5

ADAC: ara-C en dosis alta; DNR: daunorubicina; NE: no especificada.
*Revisión en la referencia bibliográfica 3.

ble HLA-idénticos. En general, se trata de dos hermanos que han heredado de los padres los mismos genes del sistema mayor de histocompatibilidad. Con menor frecuencia, el donante es otro tipo de pariente, con una o varias diferencias antigénicas, circunstancia esta última en la que los resultados del TPH son pobres. Si no existe un donante familiar compatible, puede buscarse uno en los registros internacionales, con más de 8 millones de voluntarios, o recurrir a células de cordón umbilical no emparentado.

Con el trasplante singénico se obtienen resultados similares al alogénico, debido a la menor mortalidad del primero pero mayor frecuencia de recaídas dada la ausencia de efecto RIL. Los resultados del grupo CETLAM con auto-TPH y alo-TPH de hermano HLA-idéntico se exponen en las figuras 22.4, 22.5 y 22.6.

Debe tenerse en cuenta que los pacientes incluidos en series de trasplante hematopoyético se seleccionan favorablemente, sobre todo debido a que se excluyen las recaídas leucémicas tempranas. Por ello, los resultados del trasplante deben analizarse según la intención de tratamiento desde el momento de la remisión. Sólo así se puede estimar lo que una estrategia que incluya TPH puede ofrecer a los enfermos en RC.

La principal complicación del alo-TPH es la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH) aguda o crónica, cuya frecuencia aumenta con la edad de los pacientes, la disparidad HLA y el que se trate de donantes no emparentados. La

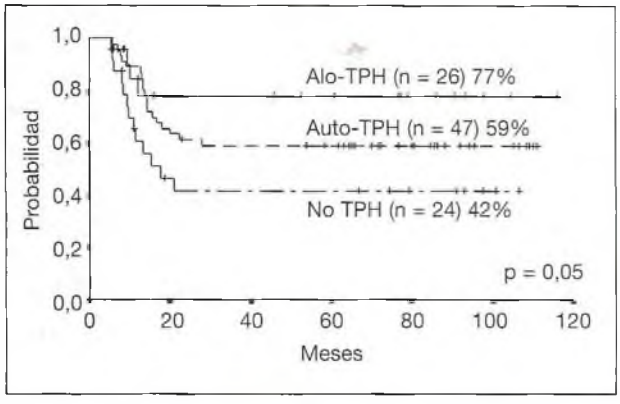


Figura 22.4. Probabilidad de permanecer en remisión completa para los pacientes con leucemia mieloide aguda de edad hasta 50 años tratados por el grupo CETLAM.

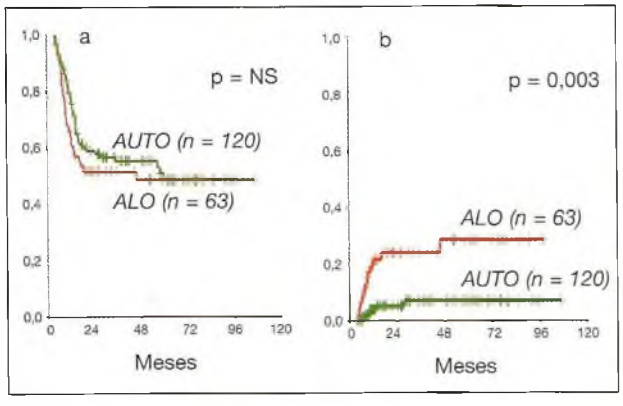


Figura 22.5. Trasplante hematopoyético alogénico y autólogo. Supervivencia libre de enfermedad (*A*) y mortalidad relacionada con el trasplante; (*B*), en la experiencia del grupo CETLAM.

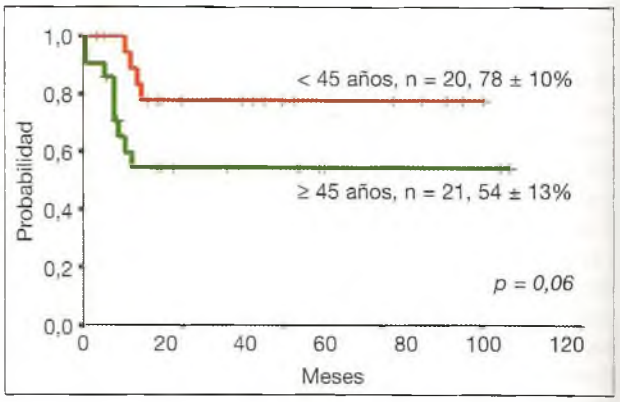


Figura 22.6. Supervivencia libre de enfermedad después de un trasplante alogénico con selección de células CD34 positivas, en pacientes con LMA de alto riesgo. Resultados del grupo CETLAM según la edad.

EICH aguda moderada a grave aparece en el 30% de los trasplantes de hermano HLA-idéntico, y la EICH crónica extensa en una proporción similar. Estos porcentajes se duplican en los alo-TPH de donante no emparentado. Cabe destacar que en los trasplantes de progenitores de cordón umbilical, pese a existir habitualmente disparidad HLA entre donante y receptor, existe menor frecuencia de EICH que cuando el donante es un adulto.

Otras complicaciones, comunes a alo-TPH y auto-TPH, son las infecciones, la neumonía idiopática y la enfermedad venooclusiva del hígado. Todas ellas son más frecuentes después de un alotrasplante, sobre todo las infecciones, al existir un mayor grado de inmunodepresión.

Trasplante hematopoyético *vs* quimioterapia

Se dispone de resultados de cinco estudios prospectivos que compararon la quimioterapia, el autotrasplante y el alotrasplante en la LMA en primera RC (tabla 22.4)[16-20]. En todos ellos los pacientes con hermano HLA-idéntico recibieron un alotrasplante, y en el resto de enfermos se aleatorizó entre la quimioterapia y el autotrasplante. En dos de los estudios, los enfermos receptores de alotrasplante recibieron menos quimioterapia posremisión que los enfermos de los otros dos grupos terapéuticos[17,18]. En cuatro protocolos se comparó la quimioterapia *vs* el autotrasplante después del mismo tratamiento[16-18,20], mientras que el MRC del Reino Unido comparó el autotrasplante *vs* la abstención después de varios ciclos de intensificación comunes[19]. Cabe destacar que un número importante de pacientes no finalizó el tratamiento previsto, debido a recaída leucémica temprana o a la toxicidad de la quimioterapia.

Como puede verse en la tabla 22.4, en la que se hallan analizados los datos según la intención del tratamiento, el trasplante alogénico se asoció con menos recaídas leucémicas que en las otras dos opciones de tratamiento en los cinco estudios[16-20]. Al comparar quimioterapia y autotrasplante, un estudio mostró igual frecuencia de recidivas en los dos grupos[17], y tres una ventaja para el autotrasplante que osciló entre el 11 y el 16%[16,18,19], diferencia en general no significativa. La SLE fue significativamente superior con alotrasplante que con quimioterapia en tres de las series[16,18,20], y mejor con autotrasplante que con quimioterapia en dos ana-

TABLA 22.4

Estudios prospectivos de trasplante hematopoyético vs quimioterapia en pacientes con LMA

Estudio	Tratamiento	Pacientes	Recaídas (%)	SLE (%)	SRV (%)	Tiempo
EORTC-GIMEMA[16]	QT	126	57	30	46	
	Auto-TPH	128	41	48*	56	4 años
	Alo-TPH	168	24	55*	59	
GOELAM[17]	QT	78	43	38	56	
	Auto-TPH	86	44	42	48	4 años
	Alo-TPH	72	30	42	51	
BGMT[18]	QT	38	58	42	55	
	Auto-TPH	39	45	51	56	3 años
	Alo-TPH	36	24	66*	65	
MRC[19]	QT	190	58	40	45	
	Auto-TPH	191	37	53**	57	7 años
	Alo-TPH	378	33	–	58	
ECOG[20]	QT	117	61	35	52***	
	Auto-TPH	116	48	35	43	4 años
	Alo-TPH	113	29	43	46	

QT: quimioterapia; SLE: supervivencia libre de enfermedad; SRV: supervivencia; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos.
*SLE mejor con alo-TPH que con QT.
**SLE mejor con auto-TPH que con QT.
***SRV global mejor con QT que con auto-TPH (p = 0,05) o alo-TPH (p = 0,04).

lisis[16,19]. La supervivencia global fue comparable en los tres grupos terapéuticos en cuatro estudios[16-19], ya que una proporción de los pacientes que recayeron en el grupo de quimioterapia se rescataron con un auto-TPH. Así, 24 de 58 enfermos del estudio EORTC-GIMEMA[16] y 21 de 63 de la serie del MRC[19] de los brazos de quimioterapia, recibieron un trasplante en segunda RC.

El trasplante hematopoyético parece tener un impacto distinto según los grupos pronósticos ampliamente aceptados[21]. Así, en el estudio del MRC, el alotrasplante fue beneficioso para los pacientes de riesgo intermedio[22]. En sentido distinto, en los trabajos de los grupos EORTC-GIMEMA, US Intergroup y CETLAM sólo se observó ventaja para el trasplante alogénico en los pacientes con riesgo desfavorable (fig. 22.7)[23,24].

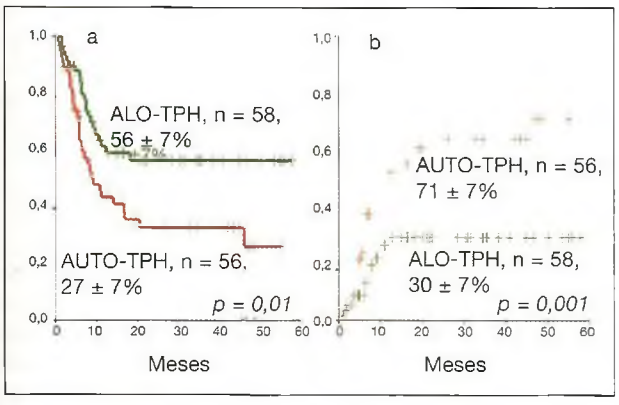


Figura 22.7. Supervivencia libre de enfermedad y recaída según el tipo de trasplante (intención de tratamiento), en los pacientes con leucemia mieloide aguda del grupo de mal pronóstico según el CETLAM.

En resumen, el trasplante alogénico es la medida con mayor potencia antileucémica y, por ello, se indica sin reparos en los pacientes con probabilidad elevada de recaída (fig. 22.7). Algunos datos apoyan una disminución de recaídas con autotrasplante frente a quimioterapia, aunque este aspecto todavía es motivo de debate. Finalmente, suele evitarse el TPH en primera RC en los casos con alteraciones cromosómicas de buen pronóstico. Con todo, en este último grupo se investiga si el autotrasplante puede disminuir las recaídas en los pacientes con cifra de leucocitos al diagnóstico elevada.

FACTORES PRONÓSTICOS

Los principales factores que influyen en los resultados del tratamiento de la LMA son la edad de los pacientes, el que se trate de una leucemia *de novo* o, por el contrario, secundaria, la cifra de leucocitos al diagnóstico y la presencia de ciertas alteraciones citogenéticas (tabla 22.5)[25]. Los pacientes jóvenes tienen más probabilidades de alcanzar la RC que los de edad avanzada, sobre todo porque la mortalidad en inducción y durante el tratamiento posremisión es menor. Los enfermos con leucemia aguda secundaria o tras mielodisplasia presentan con frecuencia leucemia resistente, y los períodos de citopenia postratamiento son prolongados, lo que favorece las complicaciones infecciosas graves. Lo mismo es aplicable a los enfermos con LMA y rasgos morfológicos de mielodisplasia trilineal. Una cifra de leucocitos elevada se asocia con menor frecuencia de RC y, sobre todo, con recidivas de la enfermedad. Ello se aplica también a las formas citogenéticas de buen pronóstico. Es interesante destacar el impacto pronóstico de los resultados del estudio citogenético, lo que se relaciona con la probabilidad de alcanzar la RC y con la supervivencia (fig. 22.8). Los enfermos con inv(16), t(16;16), t(8;21) y t(15;17) tienen muchas probabili-

TABLA 22.5

Factores pronósticos en la LMA

Favorable	Desfavorable
LMA primaria	LMA secundaria
Niños y adultos jóvenes	Adultos de edad avanzada (> 60 años)
Cifra de leucocitos normal	Leucocitosis intensa (> 50-100 × 10^9/L)
	Índice leucocitario elevado [en t(8;21) e inv16]
M3, M4Eo	M0, M5, M6, M7
t(8;21), t(15;17), inv(16); t(16;16) (incluso con alt adicionales)	alt 3q, –5 o 5q–, –7*, alt 11q23*, t(9;22), t(6;9), alt múltiples**
CD2+, CD19+	CD7+, CD34+, glucoproteína P
Mutación *ras*	Expresión aumentada *mdr1*
	Mutaciones FLT3, expresión ↑ WT1
RC con un ciclo de QT	RC con ≥ 2 ciclos de QT
≤ 20% blastos MO tras 1 ciclo de QT	> 20% blastos en MO tras 1 ciclo de QT

alt: alteraciones; MO: médula ósea; QT: quimioterapia; RC: remisión completa.

*la deleción 7q– y la t(9;11) que afecta al 11q23 tienen pronóstico intermedio.

** ≥ 5 alteraciones.

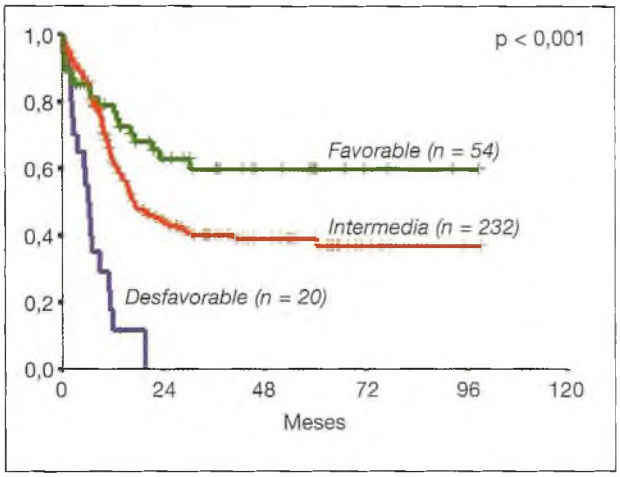


Figura 22.8. Supervivencia libre de enfermedad en los pacientes tratados por el CETLAM, según los grupos pronósticos definidos por el *Medical Research Council* del Reino Unido[21].

dades de alcanzar la RC (> 80%) y de permanecer libres de enfermedad sin necesidad de trasplante[21]. En sentido contrario, los pacientes con monosomía 5 o 7, deleción 5q–, alteraciones 3q o cariotipo complejo (> 5 alteraciones distintas) tienen muy malas perspectivas, sea cual sea el tratamiento que reciban (fig. 22.7)[21]. Por ello, suele recomendarse aplicar en ellos la terapia con mayor potencial antileucémico, como el alo-TPH, o incluir a estos pacientes en protocolos que investigan nuevas alternativas de tratamiento. Por último, otras alteraciones y el cariotipo normal configuran el grupo de pronóstico intermedio. Además de las anomalías cariotípicas mencionadas, diversos autores hacen énfasis también en el significado negativo de aquellas que afectan al cromosoma 11q23, con excepción de la t(9;11) que tiene pronóstico intermedio.

En los últimos años se ha puesto de manifiesto la importancia de la caracterización molecular al diagnóstico de la LMA, ya que ciertas alteraciones tienen significado pronóstico. Entre ellas destaca la presencia de mutaciones de FLT3, sean mutaciones puntuales en el codón D835 o duplicación interna en tándem del gen del receptor en su dominio yuxtamembrana (DIT-FLT3)[26]. Ambas alteraciones, sobre todo la DIT-FLT3, se asocian con pronóstico desfavorable. Del mismo modo, la presencia de sobreexpresión del gen del tumor de Wilms (WT1) conlleva mala evolución[27]. Los reordenamientos del gen MLL tienen, por su parte, un significado pronóstico controvertido[28].

Recientemente se ha puesto de manifiesto que el estudio del perfil de expresión génica múltiple, mediante técnica de micromatrices (*microarrays*), puede aportar información para predecir la evolución en los casos de LMA[29-31]. Ésta será una área de investigación en los próximos años.

La facilidad en la obtención de la RC también es un factor pronóstico relevante. Estudios del grupo GIMEMA hacen hincapié en que precisar de dos o más ciclos de tratamiento de inducción se asocia con elevada frecuencia de recidivas[32]. El MRC observó que los enfermos que después del primer ciclo tuvieron más del 20% de blastos en médula ósea presentaron frecuentes recaídas leucémicas. Otros factores con significado pronóstico, aunque menos consistentes que los hasta ahora mencionados, aparecen en la tabla 22.5.

Merece especial mención el valor predictivo de la persistencia de enfermedad residual mínima (ERM) postratamiento[33]. La detección de la alteración citogenética presente al diagnóstico tras la quimioterapia hace presagiar la recidiva. En el mismo sentido, la identificación de células con inmunofenotipo leucémico tras la inducción o intensificación, en una proporción superior al 0,1%, se asocia con frecuencia elevada de recaídas. En cuanto al valor pronóstico de identificar ERM por la técnica de la PCR, éste puede depender del tipo de LMA y de la sensibilidad del método. Así, en la LPA con t(15;17) la persistencia de ERM detectada con una PCR de sensibilidad intermedia (10^{-4}) se asocia casi invariablemente con recaída[4], mientras que este valor predictivo se debilita al aplicar técnicas más sensibles (10^{-5}-10^{-6}). Por otra parte, la detección molecular de la inv(16) o de la t(8;21) tiene un significado más incierto. Ya existen datos que indican que la cuantificación evolutiva de transcritos, mediante PCR en tiempo real, aumenta la utilidad clínica del seguimiento de la ERM[34].

TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA REFRACTARIA O EN RECAÍDA

Aproximadamente el 20% de pacientes con LMA muestran resistencia a la pauta inicial de inducción. Además, el 60 a 75% de los que alcanzan la RC y se tratan sólo con quimioterapia recaen de su leucemia. El tratamiento de cualquiera de las dos situaciones, refractariedad o recaída, se denomina «de rescate», y suele incluir ADAC, una antraciclina y, con frecuencia, también etopósido[35]. La proporción de RC alcan-

zadas con las pautas habituales es del 40-70%, con peores resultados en la LMA refractaria (resistencia inicial o recaída en los primeros 6 meses) que en la LMA en recidiva. En este último grupo el pronóstico es más favorable si la primera RC duró más de un año. El tratamiento de rescate es el ámbito en el que se investigan nuevas pautas de quimioterapia o nuevos fármacos que, si son eficaces, se incorporan posteriormente al tratamiento de primera línea. En ese sentido hay que destacar los estudios en los que se preconiza el uso de esquemas de rescate que incluyen fludarabina o topotecán (FLAG/IDA o FLAT, este último con fludarabina, ara-C y topotecán). También, se ensayan nuevas estrategias para mejorar la tasa de RC, especialmente bajas en caso de resistencia primaria. Entre ellas, se ha ensayado el uso de ciclosporina o PSC-833, un análogo de ésta, asociada a la quimioterapia, con el objetivo de disminuir la expresión de genes de resistencia múltiple a fármacos (*mdr*). Entre estos genes destaca el *mdr1*, que codifica la glucoproteína-P que actúa como una bomba que extrae los agentes citotóxicos de la célula. Esta expresión aumentada del gen *mdr1* se observa en el 20% de pacientes con LMA al diagnóstico y en el 50 a 80% de los enfermos en recaída. Aunque es de enorme interés intentar vencer este mecanismo de resistencia, los resultados con esta estrategia han sido hasta la fecha desalentadores. Otra modalidad terapéutica de interés es el uso de un anticuerpo monoclonal anti-CD33 unido a calicheamicina, una toxina que, en el interior de la célula, causa su destrucción[36]. Este tratamiento presenta la ventaja de que carece prácticamente de toxicidad extrahematológica, salvo favorecer el desarrollo de enfermedad venooclusiva postrasplante. Lamentablemente, las remisiones obtenidas son breves. En la LMA en recaída se investigan también nuevos agentes dirigidos contra dianas moleculares, que se detallan en el apartado siguiente[37]. Por otra parte, en los pacientes refractarios se analiza actualmente la eficacia de llevar a cabo estrategias con trasplante hematopoyético alogénico precoz, seguido de infusiones de linfocitos, según la respuesta alcanzada con el procedimiento.

El trasplante alogénico es una forma de tratamiento que debe contemplarse, salvo contraindicaciones, en los pacientes jóvenes que son refractarios o han recaído, ya que una vez alcanzada la RC después de quimioterapia de rescate, la mediana de duración de la respuesta no supera los 4 a 6 meses. En ausencia de donante compatible, el autotrasplante también debe tenerse en cuenta en los pacientes en RC.

TRATAMIENTO EN SITUACIONES ESPECIALES

Leucemia promielocítica aguda

La LPA constituye el 5-15% de los casos de LMA[4]. Esta variedad se caracteriza por una translocación recíproca entre los cromosomas 15 y 17, presente en más del 95% de pacientes. Los genes involucrados en esta translocación son el gen del receptor α del ácido retinoico (RARα) en el cromosoma 17q21 y el gen *PML* en el cromosoma 15q24. Como consecuencia, se forman dos genes de fusión *PML/RARα* en el cromosoma 15q+, y su recíproco *RARα* en el 17q–; el primero de ellos se encuentra en todos los casos y el segundo en 2/3 de las ocasiones. Otras variantes citogenéticas que se observan en menos del 5% de los enfermos son la t(11;17)(q23;q11), con fusión del gen *PLFZ* en 11q23, con el *RARα* y la t(5;17), que representa la fusión de los genes nucleofosmina *NPM* y *RARα*.

Hasta mediados de la década de 1980, el tratamiento de la LPA no difería del administrado en el resto de variedades de LMA. Es destacable que los grupos franceses y algún autor en España habían hecho hincapié en que en la LPA se alcanzaba una notable proporción de remisiones con daunorubicina sola, sin necesidad de asociar otros quimioterápicos[38]. La mortalidad durante el tratamiento de inducción era más elevada en la LPA que en las otras LMA, debido al desarrollo muy frecuente de coagulación intravascular diseminada (CID) con complicaciones hemorrágicas fatales. En los pacientes en RC, la duración media de ésta era algo más prolongada que en otros tipos de LMA, y con quimioterapia se alcanzaba una meseta de SLE prolongada de en torno al 25%. El TPH se indicaba habitualmente en primera RC, y se observaba una mortalidad por complicaciones del alo-TPH ligeramente superior que en el resto de LMA, sin identificarse un motivo que lo justificara.

En 1986, investigadores de Shangai introdujeron el ATRA en ensayos clínicos de terapia de la LPA. Con este agente, administrado por vía oral como único tratamiento, observaron un 84% de RC, proporción que aumentaba al 95% en los casos con documentación de la t(15;17) por métodos citogenéticos o moleculares. Estas experiencias preliminares se confirmaron en estudios realizados en el *Memorial Sloan Kettering Cancer Center* de Nueva York y en Francia. Los fenómenos más llamativos fueron la demostración de que las células leucémicas se diferenciaban hacia granulocitos maduros, en ocasiones con las astillas características de los promielocitos atípicos, y que la CID mejoraba de forma notoria a los 2-3 días de iniciado el tratamiento. El ATRA permitió obtener RC sin la aplasia que se observaba tras el tratamiento citotóxico. Actualmente, se sabe que este efecto diferenciador parece radicar en que el ATRA disminuye muy significativamente la expresión de los transcritos del producto de fusión *PML/RARα* que impiden la diferenciación de las células de la LPA. Los casos excepcionales de esta enfermedad con translocaciones y genes fusionados distintos a los que se observan en la t(15;17) muestran resistencia al ATRA y, con ello, peor pronóstico.

La RC se obtiene con ATRA entre 4 y 12 semanas después de iniciado el tratamiento. En el 25% de casos aparece el denominado síndrome de ATRA, caracterizado por fiebre, infiltrados pulmonares con insuficiencia respiratoria, alteración de la función renal y, en ocasiones, fallo cardíaco. El tratamiento precoz con dexametasona evita en gran medida la evolución desfavorable de este síndrome. El control de la cifra de leucocitos, que aumenta bajo tratamiento con ATRA, puede realizarse con hidroxiurea o DNR, y protege de esta complicación. El origen del síndrome de ATRA parece ser la liberación de citocinas por los promielocitos en maduración.

Es frecuente que después de alcanzada la RC con ATRA persista la alteración citogenética en el estudio convencional, y en la mayor parte de casos todavía se detecta la alteración molecular. Estos hallazgos y la aparición de recaídas en la inmensa mayoría de pacientes tratados sólo con ATRA han puesto de manifiesto la necesidad de administrar también quimioterapia. De entre los diferentes trabajos con esta doble terapéutica ha destacado la combinación AIDA, que consiste en la administración de ATRA e IDR, seguida de quimioterapia de consolidación[4]. Con este esquema, investigadores italianos y españoles alcanzaron más del 90% de RC y una meseta de SLE de más del 70%[39]. El riesgo de recaída depende de las cifras de leucocitos y plaquetas iniciales[40]. En los enfermos con una cifra de

leucocitos inferior a 10 × 10^9/L y de plaquetas superior a 40 × 10^9/L la probabilidad de recidiva es casi nula; en los pacientes sin leucocitosis pero con plaquetas inferiores a 40 × 10^9/L el riesgo de recaída es del 10%, y en aquellos con más de 10 × 10^9/L leucocitos del 30% (fig. 22.9). El tratamiento de mantenimiento con 6-mercaptopurina, metotrexato y ATRA disminuye ligeramente las recaídas, por lo que se recomienda en todos los casos. También para disminuir las recidivas, el grupo español PETHEMA ha aumentado la dosis de las consolidaciones, en los enfermos con riesgo intermedio y alto definidos anteriormente, con mejora de los resultados[41].

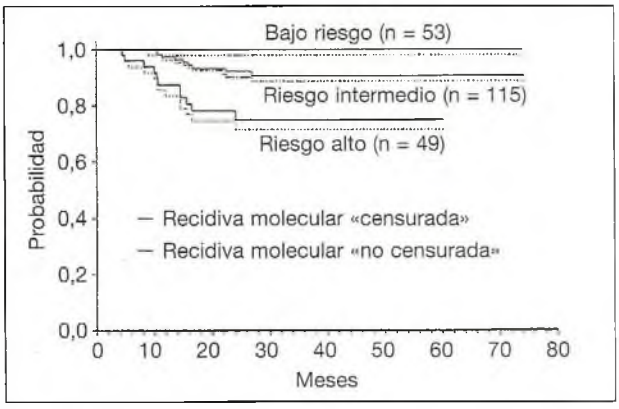


Figura 22.9. Supervivencia libre de enfermedad de los pacientes con leucemia promielocítica aguda según los grupos pronósticos[40]. Bajo riesgo, < 10x10^9/L leucocitos y > 40x10^9/L; riesgo intermedio, < 10x10^9/L leucocitos y < 40x10^9/L; alto riesgo, > 10x10^9/L.

Dada la alta eficacia del tratamiento con ATRA y quimioterapia, no está indicado efectuar un TPH en los enfermos en la primera RC de una LPA. Constituyen una excepción los pacientes que, pese a estar en remisión morfológica al final de la quimioterapia, no alcanzan una remisión molecular (alrededor del 5% de casos). En esta situación debe realizarse un TPH, si es posible, alogénico.

Cuando aparece una recidiva, el tratamiento actual se realiza con trióxido de arsénico. Este agente es muy eficaz en esta situación[42], y se investiga activamente como tratamiento de primera línea de la LPA, asociado o no a ATRA. Si tras la recidiva se obtiene una remisión molecular con trióxido de arsénico, el tratamiento de elección posterior es el autotrasplante. Si no se alcanza una remisión molecular y el enfermo tiene un hermano HLA-idéntico, el paciente debe recibir un trasplante alogénico. En ausencia de remisión molecular y de hermano compatible, debe administrarse quimioterapia con una antraciclina y ara-C en dosis intermedia o alta. Según que la remisión alcanzada sea o no molecular, se indicará un auto-TPH o un trasplante de donante no emparentado, este último en los pacientes jóvenes. Finalmente, en la LPA están en estudio fármacos inhibidores de la desacetilasa de las histonas, que podrían liberar de la represión de la transcripción originada por el oncogén[43].

Leucemia mieloide aguda en pacientes de edad avanzada

La LMA en la edad avanzada tiene peor pronóstico que en los jóvenes (fig. 22.10). En general, se incluye en este grupo

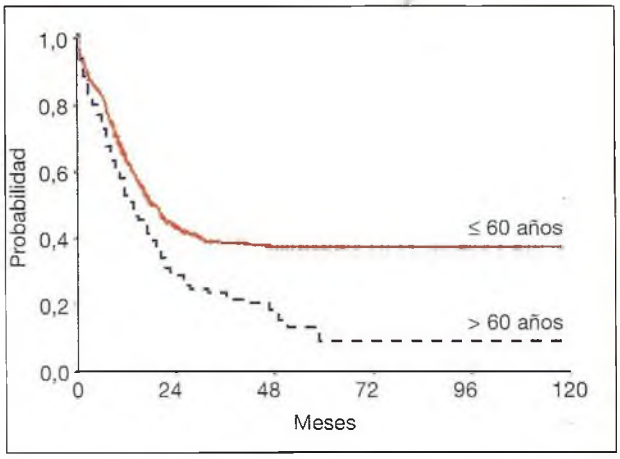


Figura 22.10. Supervivencia de los pacientes con LMA según la edad. Experiencia del CETLAM.

de edad a los enfermos de más de 60-65 años[1]. El pronóstico desfavorable obedece a dos razones fundamentales. En primer lugar, la leucemia tiene características clínicas y biológicas adversas. Así, es frecuente que evolucione de un síndrome mielodisplásico, que presente alteraciones citogenéticas de mal pronóstico, que la transformación leucémica asiente en progenitores muy inmaduros y que las células expresen el gen *mdr1*. En segundo lugar, los pacientes presentan una situación clínica más deteriorada que los jóvenes, con frecuentes enfermedades asociadas, lo que dificulta el tratamiento intensivo y aumenta sus complicaciones y mortalidad. Pese a todo lo mencionado, ya que el tratamiento paliativo no ofrece más de 3 meses de SRV mediana, es recomendable, salvo contraindicación, la quimioterapia intensiva. En la mayor parte de centros se aplica esta pauta de decisión terapéutica individualizada[1].

La quimioterapia de inducción debe incluir 3 días de una antraciclina y 7 de ara-C en dosis de 100 mg/m^2/día en infusión continua. Un estudio alemán en pacientes de más de 60 años mostró que 60 mg/m^2/día de DNR fueron superiores a 30 mg/m^2/día, con tasas de RC del 52 y 45%, respectivamente. En los enfermos de edad avanzada no existen datos que indiquen que sea mejor administrar IDR que DNR en inducción[5]. El MTN también ha sido motivo de análisis en este grupo de edad. El grupo ECOG lo comparó con DNR e IDR, en combinación todos ellos con ara-C en dosis convencional, en pacientes de más de 55 años, sin observar diferencias en la tasa de RC. Así pues, los datos existentes no apoyan con claridad el uso de una antraciclina alternativa a la DNR. Por otra parte, trabajos del ALSG indican que la adición de VP16 o el uso de ADAC en vez de dosis convencionales de ara-C no supone una ventaja para los pacientes de edad avanzada. Tampoco parece beneficioso utilizar ADAC en las intensificaciones, frente a dosis intermedia o convencional, ya que estos enfermos son más susceptibles a presentar toxicidad gastrointestinal y neurológica.

A pesar de la quimioterapia intensiva de inducción, consolidación y/o intensificación y mantenimiento, la mayoría de pacientes de edad avanzada con LMA recaen. En la serie del grupo EORTC-HOVON con 151 pacientes, la SRV a los 5 años fue del 18% y en la del CETLAM con 89 enfermos, del 10% (fig. 22.10). Por este motivo, se investiga la utilidad

del TPH en pacientes de más de 55-60 años. Con respecto al alo-TPH, efectuar un procedimiento estándar parece muy arriesgado por la elevada mortalidad del procedimiento, y por este motivo se han comenzado a realizar trasplantes de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica con acondicionamientos no mieloablativos[44], menos tóxicos.

Por último, en los pacientes de edad avanzada tiene particular interés administrar agentes antileucémicos con menor toxicidad, como anticuerpos monoclonales o fármacos dirigidos a dianas moleculares. El Mylotarg® ya está aprobado para tratar la LMA de estos pacientes, y han comenzado estudios con inhibidores de la farnesiltransferasa en este grupo de edad.

Leucemia mieloide aguda durante el embarazo

El diagnóstico de LMA se establece en menos de una de cada 75.000 embarazadas. En el 14% de casos, la leucemia se diagnostica en el primer trimestre de gestación, y en el resto, en fases posteriores. Ello es relevante, ya que el efecto teratogénico de la quimioterapia se produce fundamentalmente en el primer trimestre. En esta circunstancia, algunos autores preconizan el tratamiento de soporte hasta que la gestación esté más avanzada, y otros recomiendan el aborto terapéutico. Diversas experiencias muestran que el tratamiento intensivo puede administrarse con seguridad durante el segundo y tercer trimestres del embarazo, sin que aparezcan malformaciones fetales importantes, y con supervivencia de la madre y del feto[45].

Leucemia mieloide aguda posmielodisplasia y secundaria

Es difícil separar las dos entidades, en primer lugar porque las leucemias secundarias tienen con frecuencia una fase mielodisplásica previa, y en segundo lugar, porque ambos tipos de leucemia suelen agruparse en una sola categoría en numerosas publicaciones[46]. Las LMA secundarias a tratamiento se incluyen en dos grandes grupos: las debidas al uso de agentes alquilantes, y las relacionadas con agentes frente a la topoisomerasa II. Las primeras aparecen más tardíamente del tratamiento causal que las segundas, suelen cursar con una fase mielodisplásica previa, asociarse a alteraciones de los cromosomas 5, 7 o a cariotipo complejo, y es frecuente la resistencia primaria a la quimioterapia de inducción. Las LMA relacionadas con el empleo de fármacos antitopoisomerasa II tienen un período de latencia más breve, su inicio es abrupto, sin displasia precedente, suelen presentar alteraciones del cromosoma 11 y la RC se obtiene en la mayor parte de casos, pero su duración es breve. Por otra parte, la LMA posmielodisplasia, definida recientemente como presencia de más del 20% de blastos en la médula ósea en pacientes con historia de síndrome mielodisplásico previo (anteriormente se exigía por lo menos el 30% de blastos), tiene un perfil clínico biológico superponible al indicado para la LMA secundaria a agentes alquilantes.

El tratamiento de la LMA secundaria o posmielodisplasia con poliquimioterapia es en general recomendable, pese a ofrecer peores perspectivas que en la LMA *de novo*. La refractariedad es frecuente (alrededor del 35-40% de casos) y la mortalidad en inducción, elevada (aproximadamente, del 30%), ya que las citopenias postratamiento suelen ser prolongadas. Puede utilizarse una pauta convencional con una antraciclina y ara-C en dosis convencional, o bien esquemas alternativos, como el FLAG o FLAG-IDA[47]. Una vez en RC, si la edad no supera los 65 años está indicado practicar un TPH, preferentemente alogénico. Cuando existe esta posibilidad, la indicación cabe extenderla a los enfermos en remisión parcial. Algunos grupos norteamericanos preconizan realizar el TPH como medida inicial de tratamiento, sin quimioterapia previa[48]. Esta alternativa no es la habitual en Europa, donde se recomienda alcanzar primero una remisión con la terapéutica estándar[49]. El TPH de donante no emparentado es una opción para los enfermos sin donante familiar. Si no se identifica uno adecuado y si el paciente está en RC, puede plantearse un auto-TPH. La probabilidad de SLE a los 3 años después de este último procedimiento se sitúa en torno al 30%.

MEDIDAS COMPLEMENTARIAS DE TRATAMIENTO

Prevención del síndrome de lisis tumoral

Es necesaria la hidratación abundante antes y durante la quimioterapia de inducción. Conviene administrar también alopurinol o rasburicasa para evitar la hiperuricemia. En las formas con hiperleucocitosis (> 100×10^9/L leucocitos) estas medidas son especialmente necesarias. También debe iniciarse con prontitud la quimioterapia para evitar la leucostasis. Ésta consiste en una oclusión parcial o total de la microcirculación por cúmulos de células blásticas. Afecta sobre todo a la circulación cerebral o pulmonar, y presenta síntomas de isquemia que puede originar infartos, a menudo hemorrágicos. En las formas muy leucocitósicas, el inicio de la quimioterapia puede asociarse con la aparición de hipocalcemia, CID e insuficiencia renal. También puede aparecer lesión renal en la LMA M4 o M5, debido a lesiones tubulares originadas por una gran cantidad de lisozima en orina.

Profilaxis del sistema nervioso central

Es frecuente efectuar profilaxis de las recaídas leucémicas en el sistema nervioso central (SNC) en los pacientes con leucocitosis superior a 100×10^9/L y en las variedades M4 y M5. Suele administrarse metotrexato intratecal, asociado o no a ara-C. No se ha definido si el uso de ADAC por vía endovenosa hace innecesario el tratamiento intrarraquídeo.

Factores estimulantes de colonias hematopoyéticas

Los factores estimulantes de colonias hematopoyéticas (*Colony Stimulating Factors* [CSF]) son citocinas que estimulan la proliferación y maduración de los progenitores hematopoyéticos. En las LMA se han utilizado para acelerar la recuperación granulocitaria posquimioterapia o TPH, o para favorecer que las células leucémicas entren en fase de síntesis de DNA y sean más sensibles al tratamiento. Con este segundo objetivo, un trabajo reciente ha mostrado ventajas, en términos de menores recaídas y mayor SLE, en los enfermos con LMA y riesgo intermedio que recibieron G-CSF los días de la quimioterapia de inducción a la remisión[50].

El factor estimulante de colonias granulocíticas (G-CSF) y el factor estimulante de colonias granulocítico-macrofágicas

(GM-CSF) reducen la duración de la neutropenia postratamiento y los días de fiebre. En algunos estudios disminuyen también las infecciones documentadas y los días de hospitalización. En casi todos los trabajos ello no se traduce en una mayor proporción de RC ni en una ventaja en SRV. Por ello, habitualmente se limita su empleo a los pacientes neutropénicos con complicaciones infecciosas que requieran una recuperación urgente de la cifra de neutrófilos. También es frecuente administrarlos en los enfermos de edad avanzada que reciben quimioterapia intensiva.

Inicialmente, se contraindicó el uso de CSF en los pacientes con LMA al existir receptores para esta citocina en las células leucémicas y estimularse su crecimiento *in vitro*. Posteriormente, se comprobó que su uso clínico no se asoció en ningún estudio a un aumento de las recaídas leucémicas. Por ello, no existe en la actualidad limitación a su empleo cuando se considera indicado. Por otra parte, el GM-CSF parece tener propiedades inmunomoduladoras y estimular la actividad antileucémica mediada por células *natural killer* (NK) y células con *actividad killer* (AK).

TERAPÉUTICA EN FASE DE INVESTIGACIÓN

Se ha comenzado a investigar cómo pueden mejorar los resultados alcanzados en la LMA con nuevas modalidades de tratamiento[3,37,51]. Están en estudio nuevos agentes citotóxicos (tabla 22.6) y combinaciones alternativas a las clásicas. Se intenta vencer la resistencia mediada por los genes *mdr* con la administración de ciclosporina, sus análogos o verapamilo. Los oligonucleótidos antisentido bloquean el DNA anormal, lo que podría neutralizar la proliferación neoplásica.

Se investiga muy activamente sobre fármacos que pueden restaurar las alteraciones de señalización intracelular o de los defectos en la transcripción que existen en la LMA. En ese sentido, ya se dispone de experiencia con inhibidores de la farnesil transferasa, o de FLT3, y con agentes desmetilantes.

El uso de ACMO puede facilitar el tratamiento selectivo de las células leucémicas. Otras formas de bioterapia en fase de investigación son la introducción en los blastos de moléculas estimuladoras de la respuesta inmune del paciente, la administración de células dendríticas que hagan de presentadoras de antígenos leucémicos y, por último, la inmunoterapia celular autogénica o alogénica con linfocitos T o células NK y AK.

En el ámbito del trasplante hematopoyético, se perfecciona la técnica de los realizados a partir de donantes no emparentados. El uso de técnicas moleculares de alta resolución en el tipaje HLA permite seleccionar al donante con máxima com-

TABLA 22.6

Fármacos en fase de investigación en la LMA

- Análogos de las purinas y pirimidinas
  - Clofarabina, troxacitabina, gemcitabina
- Agentes hipometilantes
  - Decitabina, 5-azacitidina
- Inhibidores de la topoisomerasa I
  - Topotecán, 9-AC, 9-NC, CPT-11
- Análogos de platino/alquilantes
  - Carboplatino, CI-973, talimustina
- Arsenicales
  - Trióxido de arsénico, melarsoprol
- Inhibidores de la desacetilasa de las histonas
  - Tricostatina A, trapoxín, depudecinas, depsipéptidos bicíclicos, butiratos
- Formas liposomales
  - Doxorrubicina, daunorubicina, ATRA
- Agentes que modulan el gen *MDR*
  - Ciclosporina
  - PSC-833, VX-710, VX-853
- Tratamiento dirigido a dianas moleculares
  - Farnesiltransferasa: tipifarmib, SCH66336, L77813, BMS214662
  - FLT3: PKC412, SU11248, CEP701, MLN518
  - Inductor de apoptosis: oblimersen
  - Proteasoma: bortezomib

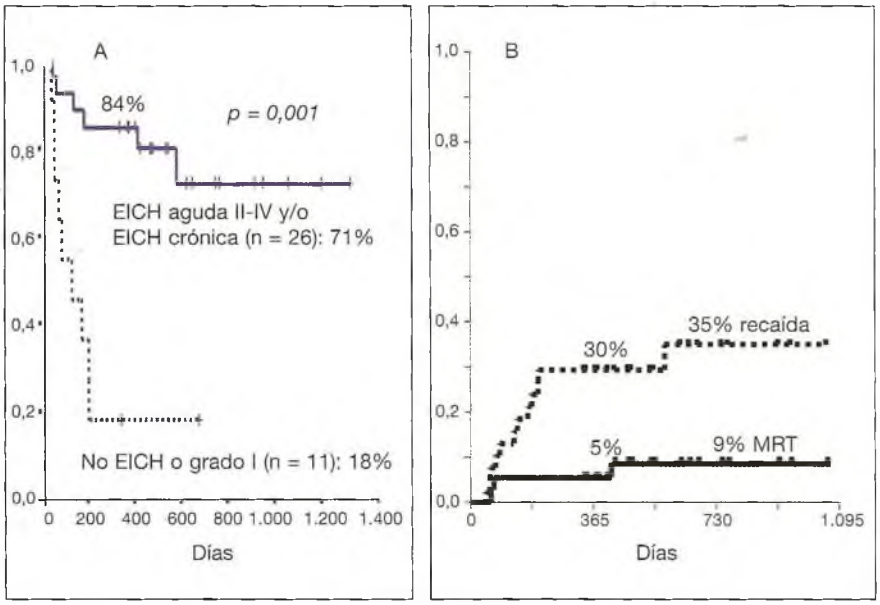


Figura 22.11. Trasplante hematopoyético con acondicionamiento de intensidad reducida en pacientes con LMA y mielodisplasia. Experiencia española[44]. (*A*) Supervivencia según el desarrollo de enfermedad del injerto contra el huésped; (*B*) incidencia acumulada de recaídas y de mortalidad relacionada con el trasplante, en la serie global.

patibilidad con el receptor. Ello, junto a la disponibilidad de nuevos fármacos para prevenir y tratar las complicaciones del trasplante hace que los resultados de este tipo de trasplantes se aproximen a los de hermano HLA-idéntico. Por otra parte, datos muy recientes indican que los progenitores hematopoyéticos de sangre de cordón umbilical, una fuente de células útil en trasplantes pediátricos, es una alternativa prometedora también en adultos.

Finalmente, en los últimos años se ha comprobado que el trasplante hematopoyético puede realizarse en pacientes de edad avanzada y/o con enfermedades asociadas, si se administra terapia de preparación (acondicionamiento) de intensidad reducida (minitrasplantes). Esta modalidad es cada vez más frecuente, al observarse que la reacción del injerto contra el tumor es el componente fundamental del efecto antileucémico del trasplante (fig. 22.11).

BIBLIOGRAFÍA

1. Hernández-Boluda JC, Sierra J, Esteve J, Nomdedeu B, Montserrat E. Treatment of elderly patients with AML: results of an individualized approach. Haematologica 1998; 83:34-39.
2. Cheson BD, Bennett JM, Kopecky KJ et al. International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia. Revised recommendations of the International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia. J Clin Oncol 2003; 21:4642-4649.
3. Acute myeloid leukemia and acute promyelocytic leukemia. Lowenberg B, Griffin JD, Tallman MS. Hematology (Am Soc Hematol Educ Program) 2003; 82-101.
4. Sanz MA, Martín G, Avvisati G. Tratamientos de inducción a la remisión en la LMA. Presente y perspectivas de futuro. Haematologica (ed. esp.) 1998; 83:378-383.
5. The AML collaborative group. A systematic collaborative overview of randomized trials comparing idarubicin with daunorubicin (or other anthracyclines) as induction therapy for acute myeloid leukaemia. Br J Haematol 1998; 103:100-109.
6. Bishop JF, Matthews JP, Young GA et al. A randomized trial of high-dose cytarabine in induction in acute myeloid leukemia. Blood 1996; 87:1710-1717.
7. Weick JK, Kopecky KJ, Appelbaum FR et al. A randomized investigation of high-dose versus standard-dose cytosine arabinoside with daunorubicin in patients with previously untreated acute myeloid leukemia: A Southwest Oncology Group Study. Blood 1996; 88:2841-2851.
8. Bishop JF, Lowenthal RM, Joshua D et al. Australian Leukemia Study Group: Etoposide in acute nonlymphocytic leukemia. Blood 1990; 75:27-32.
9. Brunet S, Esteve J, Berlanga J et al. Treatment of primary acute myeloid leukemia: results of a prospective multicenter trial including high-dose cytarabine or stem cell transplantation as post-remission strategy. Haematologica 2004; 89:940-949.
10. Hann MI, Stevens RF, Goldstone AH et al. Randomized comparison of DAT versus ADE as induction chemotherapy in children and younger adults with acute myeloid leukemia. Results of the Medical Research Council's 10 th AML Trial (MRC AML10). Blood 1997; 89:2311-2318.
11. National Cancer Research Network. Trials Portfolio. AML-15 Trial. www.ncrn.org.uk/portfolio/ 2005.
12. De la Rubia J, Regadera A, Martín G et al. FLAG-IDA regimen (fludarabine, cytarabine, idarubicin and G-CSF) in the treatment of patients with high-risk myeloid malignancies. Leuk Res 2002; 26:725-730.
13. Díaz-Mediavilla J, Del Potro E, Llorente L et al. Posibilidades de curación de la leucemia aguda mieloblástica con el régimen VAPA modificado: resultados preliminares. Med Clin (Barc) 1984; 83:783-786.
14. Bloomfield CD, Lawrence D, Byrd JC et al. Frequency of prolonged remission duration after high-dose cytarabine intensification in acute myeloid leukemia varies by cytogenetic subtype. Cancer Res 1998; 58:4173-4179.
15. Mayer RJ, Davis RB, Schiffer CA et al. Intensive postremission chemotherapy in adults with acute myeloid leukemia. N Engl J Med 1994; 331:896-903.
16. Zittoun RA, Mandelli F, Willemze R et al. Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. N Engl J Med 1995; 332:217-223.
17. Harousseau JL, Cahn JY, Pignon B et al. Comparison of autologous bone marrow transplantation and intensive chemotherapy as postremission therapy in adult acute myeloid leukemia. Blood 1997; 90:2978-2986.
18. Reiffers J, Stoppa AM, Attal M et al. Allogeneic *vs* autologous stem cell transplantation *vs* chemotherapy in patients with acute myeloid leukemia in first remission: the BGMT 87 study. Leukemia 1996; 10:1874-1882.
19. Burnett AK, Goldstone AH, Stevens RMF et al. Randomised comparison of addition of autologous bone-marrow transplantation to intensive chemotherapy for acute myeloid leukaemia in first remission: results of MRC AML 10 trial. Lancet 1998; 351:700-708.
20. Cassileth PA, Harrington DP, Appelbaum FR et al. Chemotherapy compared with autologous or allogeneic bone marrow transplantation in the management of acute myeloid leukemia in first remission. N Engl J Med 1998; 339:1649-1656.
21. Grimwade D, Walker H, Oliver F et al. The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: Analysis of 1,612 patients entered into the MRC AML 10 trial. Blood 1998; 92:2322-2333.
22. Burnett AK, Wheatley K, Goldstone AH et al. Medical Research Council Adult and Paediatric Working Parties. The value of allogeneic bone marrow transplant in patients with acute myeloid leukaemia at differing risk of relapse: results of the UK MRC AML 10 trial. Br J Haematol 2002; 118:385-400.
23. Suciu S, Mandelli F, De Witte T et al. Allogeneic compared with autologous stem cell transplantation in the treatment of patients younger than 46 years with acute myeloid leukemia (AML) in first complete remission (CR1): an intention-to-treat analysis of the EORTC/GIMEMAAML-10 trial. Blood 2003; 102:1232-1240.
24. Slovak ML, Kopecky KJ, Cassileth PA et al. Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group Study. Blood 2000; 96:4075-4083.
25. Rowe JM, Liesveld JL. Treatment and prognostic factors in acute myeloid leukaemia. Baillière's Clinical Haematology 1996; 9:87-105.
26. Stirewalt DL, Radich JP. The role of FLT3 in haematopoietic malignancies. Nat Rev Cancer 2003; 3:650-665.
27. Barragan E, Cervera J, Bolufer P et al. Prognostic implications of Wilms' tumor gene (WT1) expression in patients with de novo acute myeloid leukemia. Haematologica. 2004; 89:926-933.
28. Muñoz L, Nomdedeu JF, Villamor N et al. Acute myeloid leukemia with MLL rearrangements: clinicobiological features, prognostic impact and value of flow cytometry in the detection of residual leukemic cells. Leukemia, 2003; 17:76-82.
29. Valk PJ, Verhaak RG, Beijen MA et al. Prognostically useful gene-expression profiles in acute myeloid leukemia. N Engl J Med 2004; 350:1617-1628.
30. Bullinger L, Dohner K, Bair E et al. Use of gene-expression profiling to identify prognostic subclasses in adult acute myeloid leukemia. N Engl J Med 2004; 350:1605-1616.
31. Liu ET, Karuturi KR. Microarrays and clinical investigations. N Engl J Med 2004; 350:1595-1597.

CAPÍTULO 23

Síndromes linfoproliferativos crónicos con expresión hemoperiférica no LLC

A. Orfao y J. F. San Miguel

ÍNDICE

Introducción
Leucemia prolinfocítica
- Leucemia prolinfocítica de origen B (LP-B)
- Forma intermedia de LLC/LP
- Leucemia prolifocítica de origen T (LP-T)

Tricoleucemia (TL)
- Características clínicas y biológicas
- Morfología e histopatología
- Inmunofenotipo
- Citogenética y biología molecular
- Formas variantes y diagnóstico diferencial
- Pronóstico y tratamiento

Leucemias de linfocitos grandes granulares (LLGG)
- LLGG de origen T
- LLGG de origen NK

Leucemia/linfoma T del adulto (LLTA)
- Carcterísticas clínicas y biológicas
- Morfología e histología
- Inmunofenotipo
- Citogenética
- Evolución y pronóstico

Linfomas no hodgkianos (LNH) con expresión periférica
- Linfoma linfocítico de células pequeñas (LLCP)
- Linfomas foliculares
- Linfoma linfoplasmocítico
- Linfoma del manto
- Linfoma de la zona marginal esplénica (LZME)
- Linfomas difusos de células grandes
- Linfomas T periféricos
- Síndrome de Sézary y micosis fungoide

Bibliografía

INTRODUCCIÓN

Los síndromes linfoproliferativos crónicos (SLPcr) con expresión hemoperiférica constituyen una serie de enfermedades que tienen en común la existencia de una proliferación clonal de células linfoides maduras (B o T) en sangre periférica. En este concepto se incluyen tanto los SLPcr, primariamente leucémicos (*leucemia linfática crónica* [LLC] que se describe con detalle en el Capítulo 24, *leucemia prolinfocítica*, *tricoleucemia* y *leucemias de células granulares*) como aquellos en que la leucemización se produce de forma secundaria a partir de ganglio linfático o piel (*linfomas leucemizados, linfomas cutáneos T*) o bien aquellos en los que la situación es intermedia (*leucemia/linfoma T del adulto*)[1-7].

El diagnóstico de los SLPcr se basa, fundamentalmente, en las características morfológicas e inmunofenotípicas de las células neoplásicas[1-7]. No obstante, en los últimos años se han sumado las aportaciones de los estudios citogenéticos y de biología molecular, que han permitido una caracterización más completa de estas enfermedades. Aunque desde el punto de vista morfológico generalmente es suficiente la microscopia óptica convencional, en ocasiones, el examen ultraestructural puede ser de gran ayuda.

LEUCEMIA PROLINFOCÍTICA

La leucemia prolinfocítica (LP) fue descrita en 1974 por Galton et al[6] como un SLP caracterizado por la presencia de gran esplenomegalia con escasas adenopatías y una elevada leucocitosis (generalmente > 100 × 10^9/L) a expensas de unas células linfoides grandes con nucléolo prominente (prolinfocitos). La existencia de dos variedades, B y T, con algunas características clínico-biológicas diferenciales, hace aconsejable su estudio por separado. No obstante, para evitar repeticiones, en el caso de la LP-T se atenderá principalmente a los rasgos que la diferencian de la LP-B.

Leucemia prolinfocítica de origen B (LP-B)

Características clínicas y biológicas

La LP-B representa alrededor del 5-10% de todos los SLPcr-B, y afecta generalmente a personas mayores de 60 años, con

TABLA 23.1

Características clínico-biológicas de los síndromes linfoproliferativos crónicos (excepto LLC) con expresión leucémica

	LP-B	LP-T	TL	TL-V	LLGG*-T	LLGG-NK	LZME	LLTA	SS/MF
Edad (años)	70	65	55	65	60	40	70	57	65
Sexo (V/H)	2/1	1,3/1	4/1	1,4/1	1/1	1/1	0,9:1	1/1	1,5/1
Adenopatías (%)	30	50	25	25	< 5	< 10	25	70	60
Esplenomegalia (%)	> 90	> 90	90	> 90	40	> 90	85	25	40
Lesiones cutáneas (%)	< 5	30	< 5	< 5	< 5	< 10	0	40	100
Leucocitosis > 100×10^9/L (%)	85	85	0	65	< 5	< 10	0	*a*	< 5
Hemoglobina < 100 g/L (%)	75	30	60	30	42	75	15	7	< 5
Plaquetas < 100×10^9/L (%)	50	30	70	45	23	50	25	12	< 5
Morfología linfocitaria	Prolinfocitos > 55%	Prolinfocitos	Tricoleucocitos	Tricoleucocitos con nucléolo	Linfocitos grandes granulares	Linfocitos grandes granulares	Linfocitos con pelos	Linfocitos convolutos	Células de Sézary
Media de supervivencia (meses)	24	7	> 120[b]	60[b]	> 70	6	> 90	24[c]	120[c]

*Asociada con fenómenos de autoinmunidad.

[a]50% de las formas agudas tienen > 50 x 10^9 leucocitos/L.

[b]Difícil de determinar con exactitud con las nuevas estrategias terapéuticas.

[c]Heterogéneo, dependiendo de las formas clínicas.

predominio de varones (70%)[8-10]. Los rasgos clínicos más notables al diagnóstico son las molestias abdominales, motivadas por el aumento del tamaño del bazo, y la presencia de síntomas constitucionales (astenia, pérdida de peso). En la exploración física contrasta la esplenomegalia gigante (> 10 cm) con ausencia o escasa expresión ganglionar (adenopatías)[4,6-10] (tabla 23.1).

El rasgo hematimétrico más importante es la elevada leucocitosis, con cifras superiores a 100×10^9/L en el 85% de casos. Con frecuencia, existe anemia normocrómica y normocítica (75% de enfermos) y trombocitopenia (< 100×10^9/L en el 50% de casos)[4,6-10] (tabla 23.1). Al igual que en la LLC-B, estos pacientes presentan hipogammaglobulinemia, junto con otras alteraciones funcionales en las subpoblaciones linfoides T (aumento de la actividad supresora y disminución de la NK), lo que favorece el desarrollo de infecciones tanto bacterianas como víricas y por gérmenes oportunistas. En el 25% de casos puede detectarse un componente monoclonal en el suero[8-10].

Morfología e histopatología

Como ya se ha señalado, la clave diagnóstica de esta enfermedad es la presencia de prolinfocitos. Estas células se caracterizan por tener mayor tamaño que el linfocito de la LLC, moderada basofilia citoplasmática, cromatina condensada y nucléolo central prominente[1,2,8-10] (fig. 23.1). La cifra de prolinfocitos necesaria para el diagnóstico de LP es de más del 55%[10]. La biopsia ósea muestra un patrón difuso o mixto (nodular + intersticial)[11]. La histopatología del bazo se caracteriza por la afectación primaria de la pulpa blanca (formaciones seudonodulares) con o sin afectación de la pulpa roja, a diferencia de la tricoleucemia, en la que la infiltración es predominantemente de pulpa roja[12-13].

Inmunofenotipo

El prolinfocito-B, aunque de apariencia morfológica más inmadura que el linfocito de la LLC, presenta características antigénicas de mayor grado de diferenciación: SIg y CD79b de alta densidad, mayor expresión de los Ags FMC7 y CD22, y menor reactividad para los Ags CD5 y CD23 (tabla 23.2a).

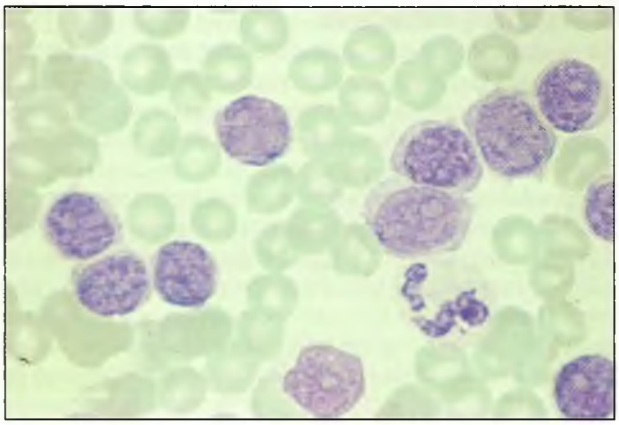


Figura 23.1. Leucemia prolinfocítica (tinción de MGG).

Ambas entidades comparten, además, otros Ags pan-B como CD19 y CD20[4,7-10].

Citogenética y biología molecular

En la LP-B se han identificado diversas alteraciones cromosómicas, entre las que destacan las del brazo largo del cromosoma 14 (14q32-*locus* en el que se localiza el gen de las cadenas pesadas de las Igs [IgH]), presentes en el 60% de los casos; aunque se ha sugerido la presencia de la t(11;14) (q13;q32), que implica a los genes bcl1 e IgH, en el 20% de estos enfermos, se cree que estos casos corresponderían a linfomas del manto con morfología equívoca de prolinfocito[8,14-17]. En la LP parece existir una alta frecuencia de mutaciones somáticas en los genes VH, con predominio de la familia V3, lo que sugiere una selección antigénica y que, por tanto, al menos en algunos casos, el prolinfocito tiene un origen posterior al centro germinal[18].

Otras alteraciones citogenéticas descritas en la LP incluyen la t(6;12) (q15;p13) y las deleciones de los cromosomas 6 y 1[14-16]. Además, en el 50% de casos existen mutaciones en el gen p53[19].

TABLA 23.2a

Fenotipo de síndromes linfoproliferativos crónicos B con expresión periférica

	LP-B	TL	TL-V	LLC/LLCP	LCF	LLP	LCM	LZME
SIg/CD79b	++	+	+	–/+	++	–/+	–/+	++
CD19	+	++	++	+	+	+	+	+
CD20	++	++	++	+	++	+	+	++
CD22	+	++	++	–/+	+	+	+	++
CD5	–/+	–	–	+	–/+	–	+	–/+
CD23	–/+	–	–	++	–/+	–	–	–
FMC7	+	++	++	–/+	+/–	–/+	–/+	+
CD10	–	–	–	–	+	–	–	–
CD11C	–/+	++	++	–/+	–/+	–/+	–/+	+
CD25	–	++	–	+	–/+	+	–/+	–
HC2	–	+	–	–	–	–	–	–
CD103	–	++	+	–	–	–	–	–/+
Bcl2	+	+	+	+	++	++	+	+/++

LP-B: leucemia prolinfocítica B; TL: tricoleucemia; TL-V: TL variante; LLC/LLCP: leucemia linfática crónica/linfoma linfocítico de célula pequeña; LCF: linfoma centrofolicular; LLP: linfoma linfoplasmocítico; LCM: linfoma de células del manto; LZME: linfoma de zona marginal esplénica.

Evolución y tratamiento

La mediana de supervivencia de la LP-B se sitúa en torno a 2 años, por lo que su pronóstico es peor que el de la LLC-B. El tratamiento óptimo de la LP no está aún establecido, dado el número reducido de casos incluidos en la mayoría de las series[8,19]. Los agentes *alquilantes*, como el clorambucilo, empleados solos o con prednisona, no suelen ser eficaces. Los tratamientos más enérgicos con *poliquimioterapia* tipo CHOP permiten alcanzar remisiones parciales hasta en el 50% de los casos, si bien éstas son poco duraderas. Una medida eficaz en muchos casos es la *esplenectomía*, hasta el punto de que algunos recomiendan su realización en los estadios iniciales de la enfermedad[19]. En sujetos mayores de 70 años se podría plantear como alternativa la *irradiación esplénica*, empleando dosis semanales de 100 cGy durante 10-15 semanas. Asimismo, en algunos casos con gran leucocitosis se puede considerar el empleo de *leucoaféresis*. La experiencia con *análogos de purinas* todavía es limitada, por la rareza de esta entidad. Con fludarabina se ha descrito una tasa de respuestas que oscila entre el 35 y el 50%, cifra similar a la obtenida con deoxicoformicina[20]. En un estudio piloto de 8 pacientes tratados con 2-clorodeoxiadenosina (0,1 mg/kg/día, 7 días, cada 28-35 días, 2 a 5 ciclos) cinco pacientes obtuvieron RC, y tres, RP[21]. Ante estos datos cabe plantearse que, en pacientes jóvenes, quizá la mejor opción sería el empleo de regímenes basados en análogos de purinas (p. ej., tipo FMC junto con anti-CD20) (fig. 23.2). También existe alguna experiencia aislada con el *anticuerpo humanizado Campath-1H*[19,22]. Por último, la posibilidad del trasplante alogénico y del posible efecto injerto contra leucemia debe tenerse en cuenta en pacientes muy jóvenes, pero siempre en el contexto de un ensayo clínico[23].

Forma intermedia de LLC/LP

Esta variante se caracteriza por presentar una cifra de prolinfocitos del 11-55% (fig. 23.3), mientras que para el diagnóstico de LP se requieren más del 55%[10]. Pueden distinguirse dos formas: *a*) cuadros de progresión a partir de LLC, con un incremento más o menos rápido en la cifra de prolinfocitos, y *b*) cuadros que se inician con esa proporción de prolinfocitos y permanecen estables durante un período considerable de tiempo. En nuestra experiencia, estos pacientes tienen realmente características clínico-biológicas y fenotípicas intermedias entre LLC y LP. Con respecto al tratamiento, a semejanza de la LLC, presentan una alta sensibilidad a los análogos de purinas[19].

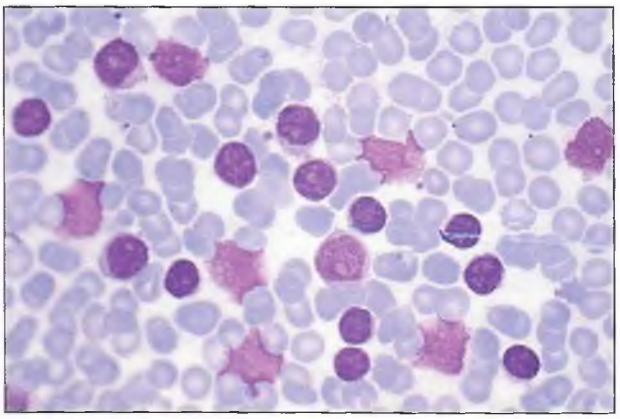


Figura 23.3. Forma intermedia de leucemia linfática crónica/leucemia prolinfocítica: coexisten linfocitos pequeños junto a prolinfocitos (< 50%) y se observan sombras de Gumprecht (tinción MGG).

Leucemia prolinfocítica de origen T (LP-T)

Aunque la LP-T es más infrecuente que su contrapartida B (20-30% del total de LP), en el contexto de los SLPcr-T la LP-T representa un tercio, mientras que como antes se ha indicado, la LP-B constituye sólo el 5-10% de los SLPcr-B. En la clasificación de la OMS se reconoce la LP-T como una entidad con tres variantes morfológicas[2,24].

Características clínicas y biológicas

La LP-T presenta gran esplenomegalia, pero a diferencia de la LP-B, la enfermedad está diseminada, y son más frecuentes las adenopatías (50%), así como las lesiones dérmicas (30%) (nódulos o eritema maculopapular) y los derrames pleurales, la ascitis y la afectación del sistema nervioso central (14%). Estos datos sugieren un curso más tórpido que el de la LP-B. El predominio de varones en la LP-T es menos evidente (1,3:1), y la edad de presentación[25] es semejante (tabla 23.1).

La hematimetría periférica es similar a la de la LP-B, y se constatan grandes leucocitosis (> 200 × 10^9/L en la mitad de los casos) acompañadas de anemia y trombocitopenia moderadas en un tercio de los pacientes[25] (tabla 23.1).

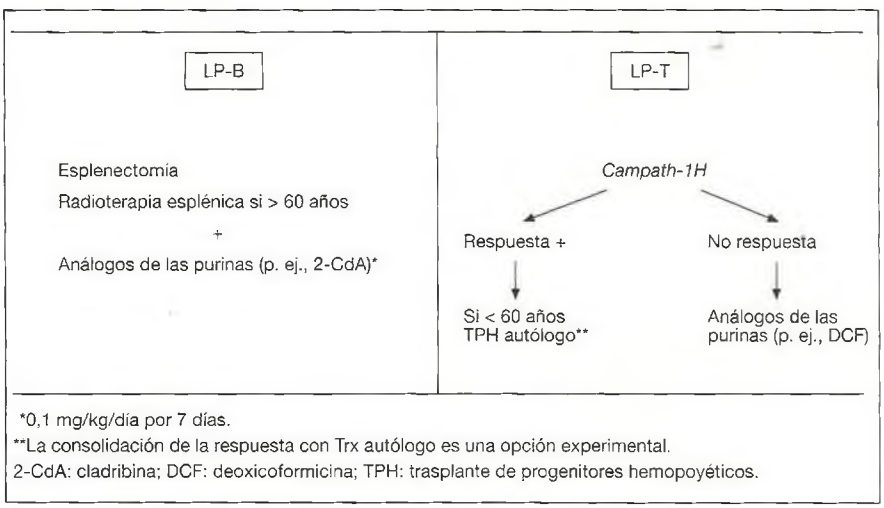


Figura 23.2. Esquema terapéutico en leucemia prolinfocítica (LP).

Morfología e histopatología

Los prolinfocitos T, aunque muchas veces son indistinguibles de los B, pueden presentar algunos rasgos diferenciales como: menor tamaño, contorno más irregular con protrusiones, basofilia citoplasmática más intensa y núcleo discretamente convoluto[1,2,25]. Asimismo, el nucléolo suele ser menos prominente que en las formas B, lo cual es especialmente notorio en los casos de prolinfocitos de pequeño tamaño (20%)[26] y con núcleo de aspecto cerebriforme[27,28]. En estas variantes de células pequeñas y de células cerebriformes es importante recurrir a la microscopia electrónica, que permite confirmar además del nucléolo, la existencia de irregularidades nucleares y abundante retículo endoplásmico con gránulos lisosómicos densos. El estudio citoquímico de los prolinfocitos T muestra positividad para la fosfatasa ácida, β-glucuronidasa y ANAE (positividad focal, a diferencia de la LLC-T), así como para DAP-IV.

La histopatología del bazo y de médula ósea no difieren de la encontrada en la forma B, y es frecuente un patrón mixto (intersticial y difuso) o difuso de infiltración con fibrosis reticulínica[11,12]. Las lesiones cutáneas revelan infiltración multifocal de la dermis, pero respetando la epidermis, a diferencia del síndrome de Sézary[29].

Inmunofenotipo

Los prolinfocitos T exhiben un fenotipo postímico (CD1–, TdT–) con expresión de los marcadores pan-T CD2+, CD3+, CD5+ y reactividad intensa para CD7+. Debe destacarse que este último Ag (CD7) suele ser negativo o de baja expresión en los otros SLP-T maduros. En el 20% de casos, los prolinfocitos T expresan CD25 y carecen de expresión de CD3/TCRαβ en la membrana. Aunque en la mayoría de las ocasiones (70%) el fenotipo de la LP-T es CD4+ CD8–, también hay casos CD4+ CD8+ (25%) y CD4– CD8+ (10%)[4,25] (tabla 23.2b). Además, las células carecen de reactividad para marcadores asociados con actividad citotóxica y HLADr y muestran expresión intensa de CD52.

Citogenética y biología molecular

El 75% de las LP-T presentan alteraciones del cromosoma 14 (bien en forma de inversión o de translocaciones complejas entre ambos cromosomas 14), con puntos de rotura en la banda q11 donde se localizan los genes de las cadenas alfa y delta del receptor T y reordenamientos que afectan al oncogén *TCL-1* (14q32.1)[30,31], al gen *MTCP-1* (Xq28)[25,31-33]. En el 50% de las LP-T existen, además, alteraciones del cromosoma 8[25,34]. Recientemente, se han descrito frecuentes deleciones en el cromosoma 11 (del 11 [q22.3q23.1]), donde se localiza el gen *ATM*[31,35].

Evolución y tratamiento

La LP-T sigue un curso clínico agresivo, y tiene un mal pronóstico: la mediana de supervivencia es de alrededor de 7 meses. No obstante, algunos pacientes (hasta un tercio del total) pueden tener una fase inicial indolente similar a las LLGG-T (2-3 años) para luego progresar a un curso agresivo[36]. Lamentablemente, este subgrupo de enfermos no puede identificarse al diagnóstico. Los tratamientos con agentes alquilantes o regímenes tipo CHOP no parecen ser eficaces. Con análogos de purinas, especialmente con *2'deoxicoformicina* (DCF) en dosis de 4 mg/m^2 i.v. cada 2 semanas durante 4-6 ciclos, se obtiene una tasa de respuestas que se acerca al 50% de casos, si bien su duración es escasa y no se traduce en una prolongación de la supervivencia[25,37]. Quizá la mejor alternativa en la actualidad sea el empleo del *Ac monoclonal CAMPATH-1H* (que va dirigido contra el Ag CD52 presente en linfocitos, monocitos y macrófagos). En una serie inicial de 15 enfermos, este tratamiento produjo 11 respuestas (75%) (frente a sólo 40% con DCF) de las que 9 (60%) fueron completas (sólo 12% con DCF)[38], aunque las recaídas fueron frecuentes; no obstante, su utilización para inducir respuestas en combinación con el trasplante autólogo, en el seno de ensayos clínicos, sugiere la posibilidad de cura en algunos pacientes[38,39] (fig. 23.2).

TABLA 23.2b

Fenotipo de síndromes linfoproliferativos crónicos T con expresión periférica*

	LP-T	LLGG-T	Linfocitosis NK	LLGG-NK	LLTA	SS/MF
CD2	+	+	+	+	++	+
CD5	+	+	–	–	+	+
CD7	++	+	+	+	–	–
CD3/TCR	–/+	+	–	–	–/+	+
CD4	+	–/+	–	–	+	+
CD8	–	+	–	–/+	–	–
CD25	–/+	–	–	–	+	–
CD57	–	+	–/+	–/+	–	–
CD16	–	+	+	+	–	–
CD56	–	–/+	+	+	–	–
Perforina	–	+	+	+	–	–
Granzima B	–	+	+	+	–	–

*CD1a– y Tdt–.

LP-T: leucemia prolinfocítica T; LLGG: leucemia de linfocitos grandes granulares; LLTA: leucemia linfoma T del adulto; SS/MF: síndrome de Sézary/micosis fungoide.

TRICOLEUCEMIA (TL)

La TL fue descrita por Bouroncle et al[40] en 1958 bajo la denominación de reticulosis leucémica. El término de tricoleucemia fue acuñado posteriormente, en 1966, a raíz de la descripción morfológica de las singulares prolongaciones citoplasmáticas (pelos) que presentaban las células de estos pacientes. Asimismo, se ha descrito una forma variante. El diagnóstico de TL debe sospecharse ante la existencia de: *a*) citopenia con esplenomegalia; *b*) linfocitos circulantes con pelos, y *c*) aspirado seco.

Características clínicas y biológicas

La TL supone el 2-5% de todas las leucemias linfoides crónicas[3-7]. La edad de presentación es muy variable (30 a 80 años), si bien la mayoría de los enfermos se hallan entre la década de los 40 y los 60, situándose la mediana en 55 años, con un claro predominio de varones (80%). Los síntomas de presentación más frecuentes son síntomas constitucionales (astenia) (25% de los casos), molestias abdominales derivadas de la esplenomegalia (15%), e infecciones o diátesis hemorrágicas secundarias a las citopenias periféricas (25%)[41-44]. No obstante, no es raro que el diagnóstico sea casual, con motivo de una hematimetría de rutina[3-7,40-43].

La exploración física confirma la existencia de esplenomegalia en el 80-90% de casos, y es gigante (> 10 cm) en una cuarta parte de ellos[44,45] (tabla 23.1). Aunque la hepatomegalia y las linfadenopatías palpables son más raras (40 y 25%, respectivamente), Bouroncle et al[40] han constatado la existencia de infiltración de estos órganos en el 90% de las autopsias. Otros hallazgos clínicos menos frecuentes incluyen: osteólisis, infiltración cutánea y fenómenos autoinmunes (vasculitis, artritis)[40-43,46]. Durante la evolución de la enfermedad, la complicación clínica más frecuente e importante, dada su morbimortalidad, son las infecciones (75%), motivadas por la neutropenia (gérmenes Gram+ y Gram–), aunque también pueden ser debidas a un trastorno de la inmunidad (ocasionalmente, se observan infecciones por gérmenes oportunistas, como micobacterias, hongos y *Pneumocistis*)[3-7,40-43,47].

El rasgo biológico más relevante es la presencia de pancitopenia (anemia, leucopenia y trombocitopenia) (tabla 23.1), hasta el punto de poderse plantear el diagnóstico diferencial con una aplasia medular[47]. Por este motivo, en todo paciente con pancitopenia y esplenomegalia es aconsejable realizar un estudio inmunofenotípico para investigar la clonalidad B en sangre periférica (SP). En el desarrollo de la pancitopenia intervienen conjuntamente la hipoproducción de la médula ósea (MO) y el secuestro esplénico. Aunque en la TL la leucopenia es la norma, el 10-15% de enfermos tienen leucocitos superiores a 10×10^9/L, si bien menos del 5% superan los 50×10^9/L. Otro rasgo importante de la TL es la monocitopenia[40-43]. Desde el punto de vista bioquímico no hay hallazgos especiales, salvo una elevación de la fosfatasa alcalina granulocítica y la presencia ocasional de un componente monoclonal (CM) sérico.

Morfología e histopatología

Como ya se ha señalado, el hallazgo diagnóstico clave en esta enfermedad es la presencia de tricoleucocitos (TL) circulantes (fig. 23.4)[1,2,40]. Son células grandes (10-18 µm de diámetro) en las que destacan las finas prolongaciones citoplasmáticas (pelos) que a veces son más fáciles de identificar con tinciones supravitales o en contraste de fases[1,2,40-43]. El núcleo suele ser excéntrico, con forma variable (desde redonda a hendida) y cromatina de aspecto esponjoso. El citoplasma es amplio y azulado, observándose con microscopia electrónica numerosas mitocondrias, vesículas, retículo endoplasmático rugoso y, en un tercio de los casos, complejos ribosómicos lamelares[48], estructura que es muy rara en otros SLP-B. Es característico de estas células la positividad para la fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP), debido a un incremento en la isoenzima 5 de la fosfatasa ácida.

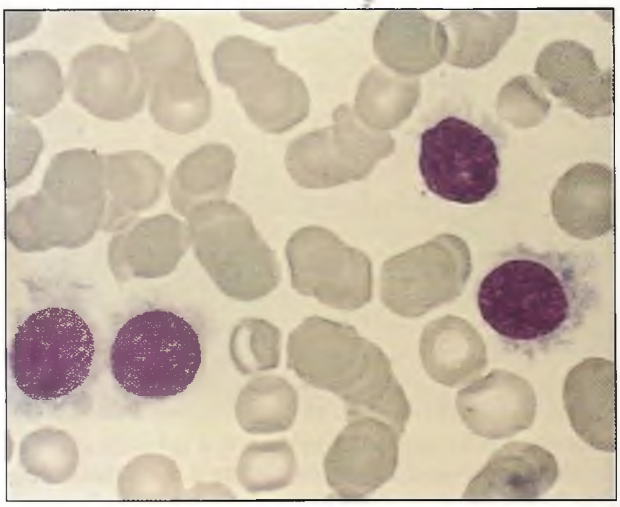


Figura 23.4. Tricoleucemia (tinción de MGG).

El aspirado de MO con frecuencia es improductivo (MO seca) a causa de las fibras de reticulina. La biopsia ósea es hipercelular en la mitad de los casos, con una imagen singular motivada por el amplio halo citoplasmático claro de los TL. En el resto de los casos, la celularidad es normal o escasa, con infiltración por TL en islotes[40,49] siendo característico, como antes se ha señalado, el gran incremento en fibras de reticulina. El bazo presenta infiltración difusa de la pulpa roja por TL, con compresión y reemplazamiento de la pulpa blanca. En el 90% de las autopsias se constata infiltración hepática y ganglionar y, con frecuencia, decreciente, infiltración de riñón, pulmón y páncreas[40].

Inmunofenotipo

Inicialmente, el origen del TL fue muy debatido, sugiriéndose incluso una ontogenia monocítica, debido a su capacidad fagocítica y adherencia al plástico en cultivos; sin embargo, hoy es incuestionable su origen linfoide B, basado en la expresión de SIg, Ags B (CD19, CD20, CD22) y reordenamiento de los genes de las Ig. Los estudios inmunofenotípicos revelan un estadio madurativo avanzado, posterior al de la LLC-B, que se acerca al de la célula plasmática[40-43,50] (tabla 23.2a). La TL se diferencia de otros LPcr-B por su positividad intensa y característica para los AcMo CD11c, CD103, CD25, y HC2 junto a FMC7, habitualmente en ausencia de CD10, CD5 y CD23[3-7,40-43,50,51] (tabla 23.2a).

La existencia de fenotipos T en TL es cuestionable, ya que los pocos casos descritos son previos a la disponibilidad de AcMo. No obstante, más recientemente, se han comunicado dos casos T asociados a infección por HTLV-II.

Citogenética y biología molecular

En consonancia con otros SLP-B, la alteración citogenética más frecuente es 14q+, junto con trisomía 5, a alteraciones estructurales que afectan a la región pericéntrica de los cromosomas 5 y 2 y a alteraciones en 1q42[15,16,52]. Aunque existe sobreexpresión de ciclina D1, ésta no se asocia con reordenamientos de BCL1 o amplificaciones de PRAD 1[7]. Desde el punto de vista molecular, se han observado, además, deleciones monoalélicas de p53 y BCL6[52-55].

Formas variantes y diagnóstico diferencial

Existe una forma variante de TL que representa alrededor del 10% de casos de TL y que, al igual que la forma clásica, presenta esplenomegalia, anemia y trombocitopenia, pero que se caracteriza por tener leucocitosis (mediana: 100 × 10^9/L) a expensas de células que, aunque tienen pelos, poseen un núcleo central con un nucléolo prominente, por lo que también se denomina forma intermedia de tricoleucemia y leucemia prolinfocítica (tabla 23.1). Hay otros rasgos diferenciales con la TL clásica que consisten en la ausencia de monocitopenia, la positividad para la fosfatasa ácida es tartrato sensible, y los AcMo HC2 y CD25 son generalmente negativos (tabla 23.2a). Además, parece ser resistente al interferón[40-43,56], y sólo la mitad muestran respuesta parcial a la deoxicoformicina y la 2-clorodeoxiadenosina[56].

Por otro lado, existen formas esplénicas de TL que cursan con escasa o nula afectación de MO, y el hiperesplenismo es el responsable de la pancitopenia.

El diagnóstico diferencial de la TL debe realizarse con otros SLP y, en especial, con los LNH leucemizados, preferentemente esplénicos; en estos casos es clave el análisis morfológico e inmunofenotípico, así como el patrón de infiltración del bazo (pulpa blanca en LNH y roja en TL)[56]. Mención singular requiere el linfoma de zona marginal esplénica, cuya discusión se hará más adelante. Por otro lado, la existencia de pancitopenia y fibrosis con MO seca podría llevar a un diagnóstico erróneo de mielofibrosis o aplasia medular en algunos casos de TL; como ya se ha señalado, el estudio inmunofenotípico de SP será de gran ayuda en estos casos.

Pronóstico y tratamiento

Hablar en el momento actual del pronóstico de la TL es aventurado ante las nuevas modalidades terapéuticas (interferón, deoxicoformicina y 2-clorodeoxiadenosina) que requieren todavía seguimientos a largo plazo. Antes de la introducción de estos tratamientos, la mediana de supervivencia se situaba en torno a los 5 años[40-43,57,58]; sin embargo, esta cifra se ha superado con el empleo de los análogos de purinas, acercándose a tasas de supervivencia global del 80% de los pacientes a los 10 años[59]. Curiosamente, se han descrito casos excepcionales, no más de seis, de remisiones espontáneas, generalmente tras un proceso infeccioso[40]. La causa más frecuente de muerte es la infección, seguida de la hemorragia[40-43].

Respecto a los sistemas de estadiaje, una vez más, las nuevas terapéuticas hacen cuestionarse su validez actual; el más extendido es el propuesto por Jansen, que se basa en los niveles de hemoglobina y esplenomegalia. Entre los factores pronósticos adversos, además de la presencia de anemia (< 85 g/L), leucocitosis y esplenomegalia (> 4 cm), también se incluye la existencia de adenopatías abdominales (en este sentido estaría indicada la realización de TC al diagnóstico) y niveles altos del receptor soluble de IL-2 (CD25)[40-43].

A continuación, se describen las distintas modalidades terapéuticas en la TL. Basándose en los resultados de las mismas, se ha diseñado un esquema de actitud terapéutica para estos enfermos (fig. 23.5).

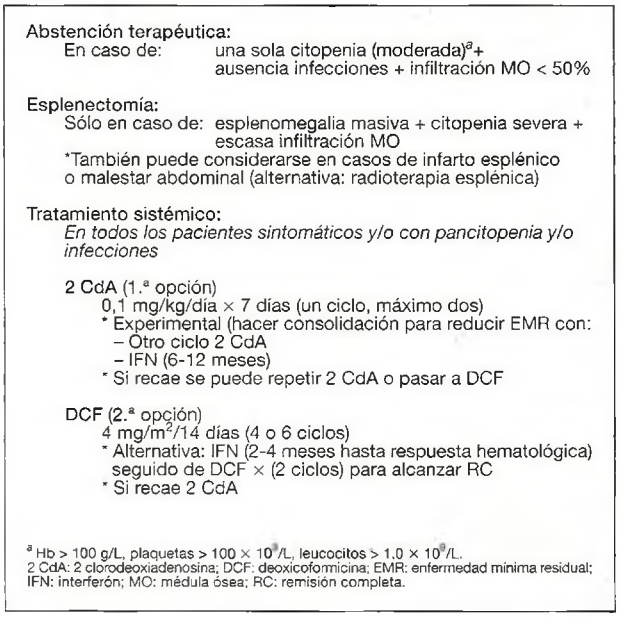


Figura 23.5. Esquema terapéutico en la tricoleucemia.

Abstención terapéutica

La observación clínica estricta sin tratamiento estaría indicada en enfermos: *a*) asintomáticos con sólo una o dos citopenias, siempre que éstas sean de carácter moderado (Hb > 100 g/L; granulocitos > 1,0 × 10^9/L y plaquetas > 100 × 10^9/L); *b*) en ausencia de infecciones, y c) cuando la infiltración medular es inferior al 50%. No obstante, sólo el 5-10% de las TL cumplen estos criterios[40-43,60,61].

Esplenectomía

Esta opción, como primera elección, en la actualidad está restringida a las esplenomegalias masivas (con problemas mecánicos, infartos o rotura esplénica) y cuando hay datos claros a favor de que la citopenia es secundaria a hiperesplenismo intenso, especialmente si la infiltración de MO es escasa. Aunque los estudios clásicos[40,41,60] constatan un 60% de respuestas, éstas son sólo parciales (mejoría de citopenias, pero > 5% tricoleucocitos en MO) con una duración media de 18 meses.

Interferón (IFN)

En 1984, Quesada et al[62] demostraron que el IFN producía cambios en la MO de la TL, con mejoría de las citopenias periféricas y reducción consiguiente en la incidencia de infecciones y requerimientos transfusionales. Esta observación inicial ha sido constatada posteriormente por múltiples grupos[6-12,40-43,60,62]. El porcentaje de respuestas alcanza el 90%, si bien la mayoría son parciales (RP), con sólo 5-10% de RC. La respuesta al IFN está condicionada en parte por el grado de infiltración inicial, mientras que la existencia de

esplenectomía previa no influye. En las primeras semanas de tratamiento, puede haber incluso un descenso de leucocitos. Aunque el IFN-α (2a o 2b) es el más utilizado, el β también es eficaz. La dosis clásica de IFN-α es de 3×10^6 U/día los primeros 6 meses, y luego, 3×10^6 U, tres veces a la semana, otros 6 meses. Una alternativa, es el empleo de dosis más bajas administradas de forma continua (2×10^6 U/día; 12 meses). De cualquier forma, el tratamiento debe prolongarse como mínimo durante un año. La duración media de la respuesta clínica se sitúa en torno a los 18 meses para las RC, y 9 meses para las RP; no obstante, la supervivencia global es similar en ambos grupos. A pesar de que estos resultados han constituido un importante avance en la evolución de los pacientes con TL, parecen haber sido claramente superados por los análogos de purinas, si bien el IFN puede seguir teniendo un papel como tratamiento complementario (anterior o posterior a los análogos de purinas) o como terapia de primera línea en pacientes con citopenias graves[62,58].

Deoxicoformicina (DCF)

La DCF es un inhibidor de la adenosina desaminasa (ADA) que interfiere el metabolismo de las purinas. Inicialmente fue ensayado en SLP-T, dada la presencia de altos niveles de ADA en los linfocitos T; sin embargo, su potencial terapéutico es especialmente relevante en la TL, logrando más del 90% de respuestas, de las que el 70-80% son RC[42,43,60,61,63-70]. La respuesta es mucho más rápida que con el IFN (1 a 2 meses para cifras periféricas, y 4 a 6 para MO) y la duración de la respuesta también es mayor, con el 80% de enfermos vivos a los 5 años, la mayoría de ellos en remisión. La dosis óptima es de 4 mg/m^2 (i.v.) cada 14 días, con un total de 4 a 6 ciclos, hasta alcanzar la RC, y luego dos más de consolidación. En un ensayo aleatorizado frente a IFN en pacientes sin tratar, la DCF obtuvo un mayor número de respuestas completas (76 *vs* 11% $p < 0,001$) y mayor SLE[61] y supervivencia global, alcanzando esta última tasas del 91 y el 80% a los 5 y 10 años, respectivamente[59]. No obstante, las ventajas de la DCF sobre el IFN pueden verse condicionadas por su mayor toxicidad (vómitos, letargo, fotosensibilidad, convulsiones, insuficiencia hepática y renal, y sobre todo, por la mielosupresión que ocasiona infecciones hasta en un tercio de los enfermos). Asimismo, la DCF produce linfopenia, en especial T, que dura más de un año y cuyas repercusiones clínicas están aún por dilucidar. Por este motivo, una alternativa atractiva podría ser empezar con IFN (2-4 meses) y, cuando han mejorado las citopenias, y por tanto, el riesgo infeccioso es menor, continuar con DCF hasta alcanzar RC[71]; además, con ello se reduciría el número de ciclos de DCF. Si el enfermo recae estando en abstención terapéutica se puede reiniciar DCF o 2-CdA. La respuesta de las formas variantes a DCF es mucho peor.

Clorodeoxiadenosina (2-CdA)

La 2-CdA es un antimetabolito que es fosforilado intracelularmente a CdATP (clorodeoxiadenosín-trifosfato). El CdATP inhibe enzimas importantes para la reparación del DNA (p. ej., DNA polimerasa, DNA ligasa), con lo que se acumulan cadenas rotas de DNA, acelerándose el proceso de muerte programada de estas células (apoptosis). Un hecho interesante es que la 2-CdA es igualmente tóxica para linfocitos en reposo y en división, lo cual es sorprendente para un antimetabolito. La experiencia acumulada por el grupo de la Scripps Clinic[61] muestra un 95% de respuestas, de las que el 85% fueron RC tras un ciclo de tratamiento, habiéndose reproducido estos resultados por otros grupos[41,42,52,64,72-77]. La dosis empleada es de 0,1 mg/kg al día durante 7 días, en infusión continua o en infusión de 2 horas[58]. El ciclo puede repetirse a las 4 semanas, pero como se ha señalado, en general basta un ciclo para alcanzar la RC, permaneciendo más del 70% de los enfermos libres de progresión a los 4 años. Los efectos secundarios son muy escasos, salvo la fiebre (43%), probablemente mediada por citocinas y que no suele ir acompañada de infección. En el primer mes puede haber disminución de neutrófilos, y durante los primeros 6 meses, descenso del cociente de células T CD4/CD8; más aún, algunos enfermos, incluso a los 3 años, siguen teniendo niveles descendidos de linfocitos T CD4, por lo que estos pacientes requieren un seguimiento estricto con el fin de establecer el riesgo, a largo plazo, de infecciones oportunistas o segundas neoplasias. Ante estos datos, la 2-CdA se ha convertido en el tratamiento de elección de la TL, dado que tiene menos efectos secundarios que la DCF y que la duración del tratamiento es menor. En un reciente estudio, el grupo de Tallman[77] ha descrito su experiencia a largo plazo en 86 enfermos con TL, tratados con un ciclo de 7 días de 2-CdA. El 79% alcanzó RC, y el 21%, RP. La SLP tras 12 años es del 54% y la supervivencia global del 87%. Además, de los enfermos que recayeron y recibieron un segundo ciclo de 2-CdA, el 52% alcanzaron una nueva RC. No obstante, además del riesgo de la inmunosupresión, en un alto porcentaje de enfermos en RC morfológica se detecta enfermedad residual (EMR) por inmunofenotipo o biología molecular, asociándose estos casos con una SLE más corta (mediana de 24 *vs* 52 meses)[78]. Ante esta situación, en casos con EMR persistente y edad joven, cabe plantearse la posibilidad de combinar tratamientos de consolidación con ciclos adicionales de 2-CdA, interferón (que tendría menos riesgo inmunosupresor) o anti-CD20[76], con el fin de erradicar la EMR y disminuir el riesgo de recaída.

Otros agentes terapéuticos

Recientemente, la posibilidad de emplear distintos anticuerpos monoclonales frente a las moléculas CD20, CD25 y CD22 ha ampliado el abanico de opciones terapéuticas para la TL[76]. El empleo de agentes alquilantes (p. ej., clorambucilo/prednisona o CHOP) estaría restringido a las variantes leucocitósicas. Los andrógenos, sales de litio y leucoaféresis están hoy en desuso. En caso de complicaciones tipo osteólisis, puede recurrirse a la radioterapia (2.000-3.000 cGy) y en el de vasculitis, a los esteroides. Por último, los factores de crecimiento (G-CSF, GM-CSF) podrían estar indicados en casos de neutropenia intensa, ya que tanto el IFN, como la DCF y la 2-CdA pueden provocar un descenso inicial de granulocitos[60,61,64].

LEUCEMIAS DE LINFOCITOS GRANDES GRANULARES (LLGG)

Bajo este término se incluyen aquellas proliferaciones que se producen a expensas de linfocitos grandes granulares (LGG). Durante mucho tiempo han constituido una área de notable controversia como lo demuestran las múltiples denominaciones que han recibido: linfocitosis crónica T; linfocitosis gra-

nular crónica; LLC-T de células supresoras; enfermedad linfoproliferativa T-gamma. Los LGG pueden tener un origen linfoide T (CD3+ y TCRαβ+ o TCRγδ+) o un origen NK (CD3–, CD56+), y su proliferación da lugar a cuadros clínico-biológicos diferenciados. Por este motivo, se revisarán por separado las LLGG-T (que representan el 85% del total) y las LLGG-NK (15%)[80-85], aunque en la clasificación de la OMS no se distingue entre ellas[2].

LLGG de origen T

Características clínicas y biológicas

Representan proliferaciones de células T citotóxicas activadas *in vivo*. En su patogenia parecen estar implicados mecanismos de activación antigénica, citocinas como IL-12 o IL-15, o proteínas retrovirales[80].

El cuadro clínico es muy heterogéneo, incluyendo desde casos de curso indolente (1/3 de los casos) en los que incluso, ante la existencia de remisiones espontáneas ocasionales se ha llegado a cuestionar su carácter neoplásico en favor del reactivo, hasta casos de evolución muy agresiva[80-84]. La mediana de edad es de 60 años (sólo el 10% tienen menos de 40 años), sin un predominio claro de sexo. Un tercio de los enfermos se halla asintomático al diagnóstico, y tendrá un curso clínico crónico estable o lentamente progresivo; en el resto, la manifestación clínica más importante serán las infecciones, secundarias a la neutropenia, generalmente bacterianas (en orofaringe, perirrectales, neumonías, etc.), pero también por gérmenes oportunistas. El 20-30% de los enfermos tienen síntomas B[80-84]. En alrededor de 1/3 de los casos existen antecedentes de artritis reumatoide, fenómenos autoinmunes (anemia hemolítica Coombs+, aplasia pura de células rojas, hipergammaglobulinemia, Ac antinucleares, etc.) y asociación con otras neoplasias[80-84,85]. El diagnostico de LLGG y artritis reumatoide (AR) puede ser concomitante o preceder uno al otro incluso en años. Es interesante el hecho de que en el síndrome de Felty (neutropenia + artritis reumatoide + esplenomegalia) exista una alta frecuencia de haplotipo DR4, al igual que en los casos de LLGG + artritis reumatoide, lo que sugiere una base patogenética similar[86]. En la exploración física puede constatarse la existencia de esplenomegalia moderada (40%) y hepatomegalia (10-30%), mientras que las adenopatías y la infiltración cutánea son excepcionales (< 5%). El hemograma muestra una linfocitosis moderada, sólo en el 15% de los casos es > 15 × 10^9/L, que va acompañada de neutropenia (78%), anemia (42%) y trombopenia (23%) en los casos CD8+/CD4– (tabla 23.1). En la patogenia de las citopenias se han implicado mecanismos inmunes, la infiltración medular y el ligando de Fas[80]. La biopsia ósea muestra infiltración linfoide intersticial difusa. Para el diagnóstico de LLGG suele requerirse la presencia en sangre de más de 2.000 LGG/μl durante más de 6 meses. Sin embargo, en casos con menor número de LGG (500/μl) pero con reordenamiento RCT clonal, también se puede establecer el diagnostico[80,83]. Asimismo, serían de ayuda las técnicas de inmunofenotipo a través de la demostración de expansiones de poblaciones que están ausentes o poco representadas en condiciones normales (véase más adelante el apartado de inmunofenotipo)[83]. Por tanto, el diagnóstico de las LLGG requiere una aproximación multidisplinaria que incluya clínica, análisis hematológico, fenotípico y molecular.

Morfología y citoquímica

Los LGG son de mayor tamaño que los linfocitos normales, con citoplasma abundante y ligeramente basófilo, y su rasgo más característico es la presencia de gránulos azurófilos (fig. 23.6). Estas células son positivas para la fosfatasa ácida y la beta-glucuronidasa, pero negativas o débilmente positivas para ANAE[81,82].

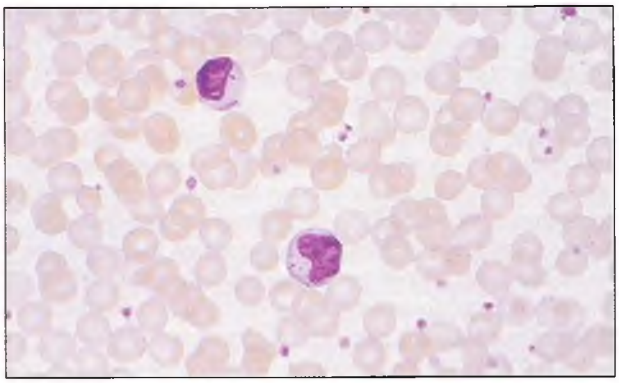


Figura 23.6. Leucemia de linfocitos grandes granulares (tinción MGG).

Inmunofenotipo

Las LLGG presentan un fenotipo maduro postímico, con cierto grado de heterogeneidad en los antigénos de membrana. Por definición, las células son CD3+, RCTαβ+, y en el 80% de casos, CD8+. El 20% restante se distribuye a partes iguales entre casos CD4+CD8–, CD4+CD8+ y CD4–CD8–. En el 80% de estos enfermos los LGG son CD16+ y CD57+, pero en cambio rara vez expresan CD56[80]. Además, constitutivamente también expresan CD2, CD45RA, perforinas, granzimas y la cadena beta del receptor de IL-2 (CD122), pero no la cadena alfa (CD25)[80-84] (tabla 23.2b). Se ha descrito que en una minoría de casos (15%) los LGG son RCTγδ+.

La disponibilidad de AcMo frente a las regiones variables del RCT puede contribuir al estudio de clonalidad en estas leucemias. En este sentido, se ha observado que el uso del repertorio de regiones Vβ del RCT en las LGG CD4+ es restringido, con un uso preferencial de la región Vβ13.1, lo que, además, sugiere una selección antigénica en la etiopatogenia de estas expansiones de LGG[80]. Asimismo, la mayoría de estos enfermos presentan aberraciones fenotípicas (fenotipos no existentes en la diferenciación normal T o expansión de subclases minoritarias) como reflejo del carácter neoplásico de la proliferación.

Citogenética y biología molecular

Aunque la información disponible es escasa, no parece existir un marcador citogenético específico, y se han descrito alteraciones en los cromosomas 14 y 8, así como trisomía 3 y pérdida del cromosoma 10. La evolución «benigna» de algunas proliferaciones de LGG hizo cuestionarse su carácter clonal; sin embargo, los estudios del reordenamiento de las cadenas beta y gamma del RCT han servido para confirmar la naturaleza clonal de estas proliferaciones CD3+[80-84].

Evolución y tratamiento

La LLGG es una enfermedad crónica, si bien con una marcada heterogeneidad evolutiva, con supervivencias que oscilan

entre 3 y 10 o más años[80-84]. Las causas de muerte más frecuentes son las complicaciones derivadas de la neutropenia y, ocasionalmente, la progresión de la enfermedad. En principio, sólo deben tratarse aquellos pacientes que presenten citopenia grave o franca progresión del cuadro linfoproliferativo. Por lo que respecta a las citopenias, la esplenectomía no suele ser eficaz o sólo lo es temporalmente; además, puede provocar aumento de la linfocitosis. En los casos de neutropenia grave, suelen utilizarse esteroides (prednisona 60 mg/día), y si no hay respuesta, factores de crecimiento (G-CSF o GM-CSF) (5 µg por kg/día) o ciclosporina A (300 mg/día, según niveles)[80,87-89]. En los casos de aplasia de células rojas o anemia grave pueden utilizarse esteroides +/– ciclofosfamida o eritropoyetina. En los cuadros agresivos, la combinación de agentes alquilantes (clorambucilo o ciclofosfamida) junto con esteroides en regímenes tipo CHOP, suelen permitir el control inicial de la linfocitosis; sin embargo, estos cuadros suelen ser muy resistentes, con un comportamiento similar al de la LLGG-NK, debido probablemente a que las células son quimiorresistentes por expresar niveles muy elevados de MDR1[80]. No existe por el momento experiencia contrastada con el uso de 2-deoxicoformicina[37].

LLGG de origen NK

Entre los cuadros con expresión periférica de células NK, en la actualidad se distinguen dos entidades: la linfocitosis crónica NK y la leucemia de LGG NK[2,80]. Íntimamente relacionados estarían los linfomas de células NK[2].

Linfocitosis crónica NK

Existe controversia sobre si esta entidad representa un trastorno benigno o bien la fase crónica de una leucemia LGG-NK[90]. Probablemente, sólo los estudios evolutivos permitirán aclarar este problema. En la patogenia de la linfocitosis crónica NK parecen estar implicadas las infecciones víricas, y esto también ocurre en las formas leucémicas agresivas. Los rasgos clínicos son similares a los de la LLGG-T (CD3+), con una edad media de 60 años, predominio de varones, ausencia de adenopatías y asociaciones con fenómenos autoinmunes (vasculitis, glomerulonefritis, poliarteritis nudosa, aplasia pura de células rojas, etc.) y otras neoplasias[90,91]. La gravedad de la neutropenia es menor que en la LLGG-T. El fenotipo típico es CD2+, CD3–, CD4–, CD8–/+, CD16+, CD56+ o CD56–/+ débil. El Ag CD57 muestra una positividad heterogénea en estas células (tabla 23.2b). A partir del empleo de dos anticuerpos monoclonales (EB6 y GL183) dirigidos frente a sendos epítopos de proteínas de la familia p58, se han descrito cuatro subpoblaciones de células NK (según sean positivas o negativas para ambos AcMo o sólo para uno de ellos). Aunque se ha sugerido que la mayor parte de los pacientes con linfocitosis crónica NK presentarían expresión preferente de una de esas cuatro subpoblaciones[83], estos resultados no han podido ser confirmados posteriormente[90]. Por ello, en la actualidad y en nuestro entorno, las pruebas de inactivación del cromosoma X (p. ej., el test HUMARA), siguen siendo las más eficaces para demostrar la clonalidad de las células NK[91]. No obstante, debe señalarse que su aplicación se restringe a pacientes del sexo femenino. En general, estos pacientes no necesitan tratamiento, salvo en caso de neutropenia grave en la que se utilizará prednisona +/– ciclofosfamida o factores de crecimiento.

Leucemia LGG-NK

En esta entidad parece existir una clara implicación del virus de Epstein-Barr. Su curso clínico es mucho más agresivo que el de la LLGG-T, con una edad de presentación más precoz (mediana de 40 años), síntomas B y hepatomegalia; en cambio, los fenómenos autoinmunes son infrecuentes (tabla 23.1). La afectación del tracto gastrointestinal, ascitis, infiltración cerebroespinal y coagulopatía no son excepcionales[80-84]. La médula ósea puede mostrar, junto con la infiltración por LGG, cierto grado de fibrosis. En sangre periférica hay leucocitosis ($> 10 \times 10^9$/L) a expensas de LGG, y la anemia y la trombopenia son más frecuentes que en la LLGG-T (tabla 23.1). El fenotipo es CD3–, TCRαβ–, TCRγδ–, CD4–, CD8–, CD16+, CD56+, granzima+, perforina+, con expresión variable de CD57 (tabla 23.2b). Estas células no muestran reordenamiento de RCT. Desde el punto de vista citogenético, las alteraciones descritas con mayor frecuencia son la duplicación de 1q, las alteraciones estructurales en 3q y la pérdida de los cromosomas 13 e Y–. La evolución suele ser fatal y a muy corto plazo, con refractariedad al tratamiento y fallo multiorgánico precoz[80-84]. En algunos casos de linfocitosis crónica NK se ha observado evolución a leucemia LGG-NK[90].

LEUCEMIA/LINFOMA T DEL ADULTO (LLTA)

La LLTA es una de las hemopatías más singulares, ya que a sus peculiares características clínicas, morfológicas y epidemiológicas se une el haber sido la primera neoplasia asociada a un retrovirus[92].

Características clínicas y biológicas

Aunque la LLTA se circunscribió inicialmente a la región suroeste de Japón y a la zona del Caribe, posteriormente se ha ampliado su distribución geográfica (África Central, América del Sur, Oriente Medio), y se han descrito casos esporádicos en muchas otras regiones[93].

La edad media de presentación se sitúa en 57 años (35 a 70 años), con una relación V:H de 1:1. Los rasgos clínicos (tabla 23.1) varían, de acuerdo a las formas clínicas a las que luego se hará referencia, destacando por su incidencia, adenopatías (70%), hepatoesplenomegalia (25%), lesiones cutáneas (40%) y lesiones pulmonares (17%). También son frecuentes las infecciones oportunistas (25%) (*Strongiloides stercolaris*); por el contrario, la incidencia de lesiones osteolíticas e infiltración del SNC es baja (< 10%), a pesar de que inicialmente se creyó que eran frecuentes[93,94]. No obstante, un tercio de los pacientes presentan hipercalcemia, que se ha relacionado con la liberación de ciertas citocinas (IL-1, TNF-β, sustancias «PTH-like»). El grupo cooperativo japonés[93] ha analizado una serie de más de 818 pacientes, todos HTLV-I positivos, estableciendo cuatro formas clínicas: aguda (57% de casos), linfomatosa (19%), crónica (19%) e indolente (5%). La forma indolente se caracteriza por presentar más del 5% de linfocitos T (CD4+) clonales en sangre periférica, si bien la linfocitosis absoluta es inferior a 4×10^9/L, criterio que se utiliza para el diagnóstico diferencial con la forma crónica. Además, no suele presentar infiltraciones tumorales, salvo ocasionales a nivel cutáneo y pulmonar, mientras que en la forma crónica puede haber hepatoesplenomegalia. La forma aguda es manifiestamente leucémica ($> 30 \times 10^9$/L en el 50% de casos); asimismo, la mitad de estos pacientes presentan hipercalce-

mia y niveles muy altos de LDH (> 3 veces el límite superior de normalidad) y son frecuentes las infiltraciones tumorales en distintas localizaciones. La forma linfomatosa se caracteriza por la ausencia de células T circulantes, asemejándose en el resto de los parámetros a la LLTA aguda[93,94].

Sin duda, el rasgo biológico más notorio es la asociación con el virus *HLTV-I* presente en la práctica totalidad de los pacientes, aunque se haya descrito alguna LLTA negativa para el *HLTV-I*[91,95,96]. La constatación del virus puede hacerse tanto a nivel serológico (anticuerpos anti-*HLTV-I*) como molecular (demostración de integración del virus en el DNA celular). Aunque el *HLTV-I* parece imprescindible para el desarrollo de la LLTA, al igual que en otras neoplasias, haría falta un segundo evento oncogénico, como mutaciones de p53, p16 y p15[97], ya que menos de 1 de cada 1.000 portadores desarrollan la enfermedad. Por otro lado, este virus no es patognomónico de esta leucemia, y está asociado a otras enfermedades como la paraparesia espástica tropical.

Morfología e histología

El cuadro morfológico es pleomórfico, si bien la célula característica presenta núcleo convoluto o polilobulado como pétalos de flor, que son especialmente notorios con microscopia electrónica. La histología del ganglio corresponde a la de un LNH pleomórfico. En las lesiones cutáneas, se observan nódulos densos de células neoplásicas[1,2].

Inmunofenotipo

La LLTA presenta un fenotipo T maduro (tabla 23.2b), en el que destaca la frecuente ausencia de dos marcadores pan-T: CD7 (negativo en el 90% de casos) y CD3 (expresión variable), si bien estas células son positivas para CD2 y CD5. Generalmente, tienen un fenotipo característico de la célula T inmunorreguladora CD4+, CD8– y alta expresión de CD25 (receptor de IL-2)[1,2,4,93,94], que, según algunos autores, podría contribuir a la expansión del clon tumoral, en relación con el *HLTV-I*.

Citogenética

Las alteraciones citogenéticas de la LLTA son complejas, y no son específicas; las más frecuentes son la trisomía de los cromosomas 3 y 7, y la deleción del brazo largo del cromosoma 6 (6q–) y el 14q+ con punto de rotura a nivel de las bandas q32 y q11 (localización del gen de la cadena alfa del RCT)[93].

Evolución y pronóstico

En el campo preventivo debe tenerse en cuenta que el *HTLV-I* se transmite por sangre y leche materna, por lo que deben evitarse tanto las transfusiones como la lactancia. En la mayoría de casos (80%) el curso evolutivo es agudo, mientras que en los restantes, fundamentalmente en las formas indolente y crónica, la enfermedad puede permanecer estable incluso años. El estudio del grupo japonés[93] confirma que las formas con peor pronóstico son la aguda y la linfomatosa (media de supervivencia de 6 y 10 meses, respectivamente) situándose la forma crónica en lugar intermedio (24 meses), mientras que la indolente es la de mejor pronóstico. Generalmente, se tratan con poliquimioterapia similar a la de los LNH de alto grado, pero la respuesta es pobre, con una supervivencia media inferior al año. La deoxicoformicina no es efectiva en esta enfermedad. A nivel experimental se están ensayando otras medidas, como Ac frente al receptor de la IL-2[98] y combinaciones de interferón con agentes antirretrovirales[99-101].

LINFOMAS NO HODGKINIANOS (LNH) CON EXPRESIÓN PERIFÉRICA

Antes de abordar el análisis de estas entidades, conviene hacer una serie de puntualizaciones: *a*) estos cuadros fueron inicialmente descritos bajo el término de leucemia de células linfosarcomatosas; *b*) teóricamente, todos los LNH (tanto B como T) pueden leucemizarse, si bien esta situación es más frecuente en algunas variantes; *c*) con técnicas inmunofenotípicas y genómicas se pueden detectar en sangre periférica células linfoides clonales en la mayoría de los LNH; no obstante, aquí sólo se analizarán los LNH con leucemización franca (> 4×10^9/L), no considerándose tampoco aquellos en los que sólo esté afectada la MO; *d*) ante una linfocitosis clonal que no se corresponda con un fenotipo de LLC, TL o LP, es aconsejable efectuar una biopsia ganglionar para esclarecer el diagnóstico de LNH y definir el subtipo histológico, y *e*) por último, cabe señalar que nuestro objetivo es describir sólo las características diferenciales, fundamentalmente morfológicas y fenotípicas, con respecto a otros SLPcr, ya que su estudio completo (clínico, biológico, etc.) corresponde al tema de LNH; únicamente se analizará con más detalle el linfoma de la zona marginal esplénica, por su relevancia en el contexto del presente capítulo.

Linfoma linfocítico de células pequeñas (LLCP)

El LLCP está íntimamente relacionado con la LLC-B, y puede leucemizarse en el 60% de casos. Aunque la citología de las células linfomatosas en sangre periférica es menos uniforme y posee un citoplasma mayor que en la LLC, a nivel histológico no hay distinción clara entre ambos cuadros y su fenotipo de membrana es similar[1,2,4,102] (tabla 23.2a).

Linfomas foliculares

Es la variante de LNH, al margen de la anteriormente mencionada, que con mayor frecuencia presenta expresión periférica (> 4×10^9/L)[102]. Aunque la incidencia de leucemización se ha situado entre el 10 y el 40%, si se utilizan técnicas de inmunofenotipo o moleculares se observa que la mayoría de los LNH foliculares están leucemizados o lo hacen con la evolución de la enfermedad. La leucocitosis suele ser moderada (10-20 $\times 10^9$/L), pero hay casos excepcionales con valores superiores a 100×10^9/L. Estos cuadros plantean confusión con LLC, y es útil para su diagnóstico diferencial morfológico, la existencia de linfocitos pequeños hendidos (centrocitos) o de cierto grado de polimorfismo, con presencia de linfocitos pequeños y grandes (centroblastos), así como la ausencia de sombras de Gumprecht[104]. El inmunofenotipo revela, a diferencia de la LLC, expresión intensa de SIg y Ags CD10 y FMC7, mientras que CD5 y CD23 suelen ser débiles o negativos[1-7,102] (tabla 23.2a). No obstante, el diagnóstico definitivo se efectúa por la histología del ganglio. En el 40-60% de casos, la MO muestra infiltración en forma de

nódulos o agregados en posición paratrabecular. Más del 80% de los linfomas foliculares poseen la translocación cromosómica t(14;18) en la que el protooncogén *bcl-2* del cromosoma 18 se transloca al 14, en concreto a la región en la que se encuentra el gen de las cadenas pesadas de las Igs, ocasionando una sobreexpresión de la proteína bcl-2[103]. Las diferencias en la incidencia de esta alteración molecular están en relación con la sensibilidad de la técnica empleada para su detección. La existencia de leucemización no parece alterar el pronóstico de estos LNH, a no ser que sea superior a 50×10^9/L o que predominen las células de gran tamaño, que sugerirían una transformación de la enfermedad[102].

Linfoma linfoplasmocítico

En esta variante, aunque con bastante frecuencia la médula ósea suele estar infiltrada, la leucemización es infrecuente y sólo en grado moderado. En sangre periférica y médula ósea coexistirán desde linfocitos pequeños hasta los típicos linfoplasmocitos, e incluso células plasmáticas. El diagnóstico diferencial debe plantearse con la LLC y, sobre todo, con el LZME; los rasgos diferenciales inmunofenotípicos más importantes son la ausencia de CD5 en presencia de FMC7 y CD25, junto con Igs citoplasmáticas[1,2,104-107] (tabla 23.2a). Recientemente, se ha descrito en el 50% de estos linfomas una translocación t(9;14) (p13;q32) que implica al gen *PAX 5*, y que podría contribuir a su discriminación con otras variantes de LNH[108]; también se han señalado alteraciones con el cromosoma 7 –del(7q32)–[15,16]. Merece destacar, no obstante, que en la macroglobulinemia de Waldenström no se detecta t(9;14), siendo frecuente la del(6q21)[107].

Linfoma del manto

Este linfoma afecta a la médula ósea y sangre periférica aproximadamente en el 30% de casos[108]. En esta situación, el mayor problema de diagnóstico diferencial es con la LLC; sin embargo, la morfología de las células en el linfoma del manto leucemizado (fig. 23.7) puede ayudar a distinguirlos: linfocitos pequeños pero con núcleos de contornos irregulares, incluso hendidos y con nucléolo, en ausencia de sombras de Gumpretch. Además, el inmunofenotipo revelará que, aunque son CD5+ y CD43+, carecen de reactividad clara para CD23, y pueden ser SIg intensos y FMC7+[1-6] (tabla 23.2a). En caso de que la leucemización corresponda a una variable blástica, las células serán de mayor tamaño y con signos de inmadurez. La médula ósea puede mostrar infiltración paratrabecular o difusa. Es característica de estos linfomas la t(11;14) (q13;q32), que implica a los genes *BCL-1* e IgH, originando sobreexpresión de PRAD-1/ciclina D1[108]. Aunque la información disponible es escasa, parece que la existencia de leucemización confiere un peor pronóstico a estos linfomas del manto[108].

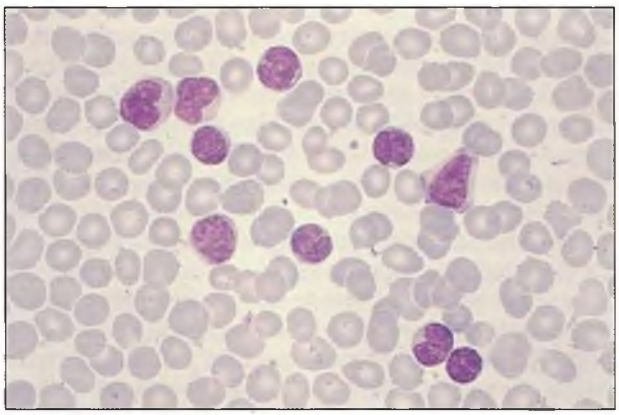


Figura 23.7. Linfoma del manto leucemizado (tinción MGG).

Linfoma de la zona marginal esplénica (LZME)

El LZME es una enfermedad que se presenta en personas de más de 55 años (edad media de 70 años), con un ligero predominio (0,9/1) en mujeres, y que se caracteriza por gran esplenomegalia sin adenopatías o sólo localizadas (25% de casos) y linfocitos con prolongaciones citoplasmáticas[109-111]. En la mayoría de casos, hay una leucocitosis moderada (10 a 30×10^9/L), con linfocitosis que va acompañada de anemia y trombopenia leve el 20-30% de los enfermos debido al hiperesplenismo (tabla 23.1). Los linfocitos del LZME son mayores que los de la LLC, y poseen núcleo redondo con nucléolo en la mitad de los casos. El citoplasma presenta basofilia intensa, destacando la existencia de prolongaciones (pelos) más cortas que las de la TL[110]. Suele ser negativo para la TRAP. La histología también muestra claras diferencias, ya que la infiltración esplénica es preferentemente de pulpa blanca, aunque también se afecta la roja. La médula ósea, a diferencia de la TL, es fácil de aspirar, y suele mostrar infiltración linfoide nodular[40,109-110].

Los linfocitos del LZME tienen un fenotipo B con expresión intensa de SIg, CD19, CD20 y CD22. La presencia de los Ag FMC7 y CD11c junto con la frecuente ausencia de Ag CD5 y CD23 son marcadores fenotípicos habituales de esta entidad. El LZME suele ser CD10–, y a diferencia de la TL, es negativo para CD25, B-ly7 y HC-2[1-7,109,110] (tabla 23.2a).

La alteración citogenética más frecuente la constituyen las anomalías a nivel del cromosoma 3 y 18, y las deleciones del brazo largo del cromosoma 7[15,16].

El pronóstico es bueno, permaneciendo vivos a los 5 años más del 80% de los pacientes[109,110]. En enfermos mayores y asintomáticos (20%), debe considerarse la abstención terapéutica. Si el paciente presenta citopenias por hiperesplenismo o síntomas de molestia por esplenomegalia o síntomas constitucionales, el tratamiento de elección es la esplenectomía. En caso de estar contraindicada, las alternativas serían la radioterapia esplénica o la quimioterapia tipo clorambucilo junto con prednisona. En los pacientes que no responden a estas medidas se han ensayado otras combinaciones quimioterápicas tipo COP o CHOP, pero generalmente con escasa respuesta. Una alternativa podría ser el empleo de análogos de purinas, ya que se han descrito respuestas completas con fludarabina, y parciales con DCF[6].

Linfomas difusos de células grandes

La incidencia de leucemización en estos LNH es baja (< 5%)[94]. En esta situación, el diagnóstico diferencial morfológico con otros SLPcr no suele ser difícil, dada la existencia de centroblastos o inmunoblastos con sus característicos nucléolos. Más aún, debe resaltarse que la leucemización de estos LNH puede prestarse a confusión con una leucemia aguda monocítica. El análisis inmunofenotípico permitirá

afirmar el carácter linfoide (B o T) de las células, descartando un origen monocítico o de célula dendrítica.

Linfomas T periféricos

Bajo esta denominación se incluyen entidades tan diferentes como el linfoma T periférico ganglionar, la forma linfomatosa de la LLTA, el linfoma T hepatoesplénico, etc.[2,102]. Aunque el término parece implicar la afectación de sangre periférica, ésta es poco frecuente, mientras que sí lo es la de otros tejidos no linfoides como pulmón, hueso o SNC. En casos de leucemización, suele constatarse una morfología heterogénea con fenotipo RCTαβ+, CD4+, asociado con frecuencia a la expresión de antígenos de activación y ausencia o expresión débil de los antígenos CD7 y CD3. Una excepción sería el linfoma T hepatoesplénico, en el que habitualmente se observa una expansión clonal de las células T RCTγδ+[2].

Síndrome de Sézary y micosis fungoide

El síndrome de Sézary (SS) constituye, junto con la micosis fungoide (MF), la representación genuina de los linfomas cutáneos, y está considerado por muchos autores como la variante leucémica de la MF[112]. Ambos son linfomas T postímicos. Clásicamente, los pacientes con MF, tras una fase inicial premicótica, permanecen en fase cutánea (parcheada o en forma de placas) durante años o incluso décadas. La progresión se hace evidente cuando aparecen tumores cutáneos ulcerados, con diseminación a los ganglios linfáticos superficiales y a otros órganos internos (fase tumoral). Sólo el 10% de pacientes con MF se leucemizan, pasando a ser entonces un SS. En casos excepcionales, los enfermos con MF desarrollan la fase tumoral sin pasar por la fase previa de placas cutáneas (presentación *d'emblé*)[112].

El SS es más frecuente en varones en la sexta década de la vida. El cuadro clínico está definido por una eritrodermia exfoliativa generalizada y prurito intenso, acompañado de adenopatías periféricas (60% de casos) y hepatoesplenomegalia (40% de casos) (tabla 23.1). En MO sólo se detecta infiltración en el 25% de los pacientes. En la histología cutánea es característico el epidermotropismo y los microabscesos de Poitrier. La histología ganglionar es variable, incluyendo desde sólo cambios dermatopáticos a infiltración típica por células de Sézary[112]. La cifra de leucocitos es normal o ligeramente elevada, si bien en ocasiones se observa leucocitosis franca, y son infrecuentes la anemia y la trombopenia. El rasgo diagnóstico característico es la presencia de linfocitos con núcleo cerebriforme (células de Sézary) (fig. 23.8). Entre estas células se distinguen dos variantes: una, de células pequeñas, y otra, de células grandes[1]. En la primera, las circunvoluciones son difíciles de reconocer, por lo que puede confundirse con LLC, dado que además esta variante cursa con mayor leucocitosis, y en estos casos es importante recurrir al examen ultraestructural. La variante de células grandes (12-16 μm) es más rara y no suele ofrecer dificultades diagnósticas. Las características citoquímicas son las propias del linfocito T: actividad de β-glucuronidasa, fosfatasa ácida y ANAE. El fenotipo es T maduro (CD1–, CD2+, CD3+, CD5+) de memoria (CD28+/CD45RO+) con expresión exclusiva de CD4[113], aunque se ha descrito algún caso CD4+ CD8+. A diferencia de la LP-T y LLTA suele ser negativo para CD7 y CD25, respectivamente[1-7,113] (tabla 23.2b). Las alteraciones cromosómicas son complejas, y es frecuente la hiperploidía.

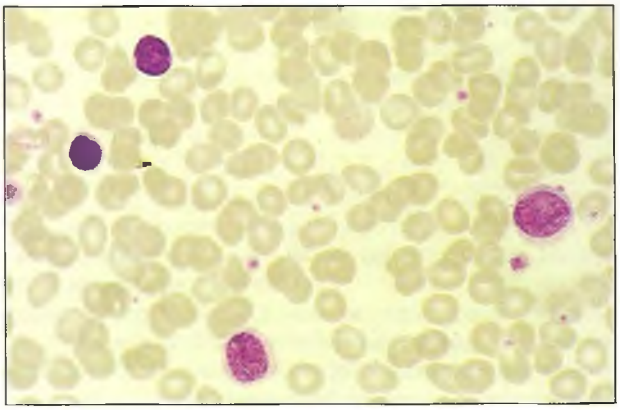


Figura 23.8. Células de Sézary (tinción MGG).

Los cromosomas 6, 2, 1 y 17 son los que con mayor frecuencia resultan afectados[114-116].

El curso evolutivo está condicionado por el estadio de la enfermedad. En los pacientes que sólo tienen enfermedad en placas, la mediana de supervivencia es de 10 años; en los que presentan eritrodermia generalizada y tumores cutáneos, es de 4 años; y en los pacientes con leucemización, la media no llega a 3 años. La terapia varía en función del estadio de la enfermedad[117-123]:

1. *Terapia tópica*. Incluye: *a*) aplicaciones diarias o a días alternos de mostaza (mecloretamina) en solución al 0,02%. Permite alcanzar remisiones en el 64% de casos, pero sólo el 10% están libres de enfermedad a los 3 años. En algunos enfermos aparece una dermatitis de contacto e incluso, aisladamente, carcinoma espinocelular; *b*) fotoquimioterapia con metoxaleno oral seguido de luz ultravioleta (u.v.) –Puvoterapia–. El metoxaleno debe usarse a razón de 0,4-0,6 mg/kg de peso dos horas antes de la radiación u.v. administrada en tres sesiones semanales. Después se pasa a una sola sesión semanal como mantenimiento. Si la enfermedad progresa, se combina la Puvoterapia con radioterapia convencional o electronterapia –3.600 cGy durante 10-12 semanas–. El grupo de Stanford refiere un 84% de remisiones completas con mediana de duración de 16 meses, en la fase de placa generalizada sin adenopatías. Otra modalidad es la fotoquimioterapia extracorpórea, en la que se somete a luz u.v. una fracción rica en leucocitos obtenidos por leucaféresis, siendo retornada al paciente tras la administración de metoxaleno oral. En casos de enfermedad resistente, se obtiene éxito en el 70% de casos, incluso en sujetos con afectación ganglionar y eritrodermia exfoliativa.
2. *Terapia sistémica*. Debe utilizarse en las formas anatomoclínicas con participación extracutánea. En formas muy leucemoides, la leucaféresis puede ser beneficiosa. La monoquimioterapia, con ciclofosfamida, clorambucilo, bleomicina, doxorrubicina, vinblastina y VP16 y, sobre todo, metotrexato, logra remisiones parciales en el 60-70% de sujetos. La poliquimioterapia consigue remisiones completas, aunque nunca superiores a un año. Los regímenes más usados han sido: CVP; CVP-B; CHOP/HOP y COMP.

Con interferón (5×10^6 U/día) se han descrito respuestas favorables en el 40-50% de pacientes, especialmente

en casos con enfermedad cutánea[120]. La deoxicoformicina (4 mg/m^2 × 3 días) muestra una tasa de respuestas del 40 al 60% pero generalmente son respuestas parciales, y la media del tiempo de progresión no suele superar el año[37,121]. La situación parece ser similar cuando se emplea fludarabina (25 mg/m^2 × 5 días) o 2-CdA (0,1 mg/kg × 5 días), y son escasos (10-20%) los enfermos que alcanzan RC[117-119,122]. También se han utilizado combinaciones de análogos de purinas con interferón, sin que los resultados mejoraran espectacularmente[121]. Por último, recientemente se ha descrito la experiencia con anti-CD52 en 22 pacientes con MF-SS; la respuesta global fue del 55%, con un 32% de pacientes que alcanzaron RC. La eficacia fue mayor sobre la eritrodermia que sobre las lesiones en placa. La media de duración hasta la recaída fue de 12 meses. Aunque éste parece ser un tratamiento eficaz, está asociado con importante toxicidad en el campo de las infecciones[123].

BIBLIOGRAFÍA

1. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT et al. Proposals for the classification of chronic (mature) B and T lymphoid leukaemias. J Clin Pathol 1989; 42:567-584.
2. Harris NL, Jaffe ES, Stein H et al. A revised European-American Classification of lymphoid neoplasms: A proposal from the International Lymphoma Study Group. Blood 1994; 84:1361-1372.
3. Rozman C (ed.), Chronic lymphocytic leukemia and related disorders. Baillière's Clin Haematol 1993; 6:757-919.
4. San Miguel JF, González M, Orfao A, López Borrasca A. Enfermedades linfoproliferativas. En: Tratado de Alergología e inmunologia clínica. Vol II: Inmunopatología general. Madrid: Ed. Sociedad Española de Inmunología Clínica Luzan 5. S.A. 1995; 157-180.
5. Matutes E. Immunophenotype of the chronic lymphoproliferative disorders. Haematologica 1998; 83(Suppl 1):393-398.
6. Catovsky D. Chronic lymphoproliferative disorders. Curr Opin Oncol 1995; 7:3-11.
7. Montserrat E. Chronic lymphoproliferative disorders. Curr Opin Oncol 1997; 9:34-41.
8. Melo JV, Parreira A. Leucemia Prolinfocítica B. En: López Borrasca et al. Enciclopedia de Hematología Iberoamericana. Universidad de Salamanca, 1992.
9. Stone RM. Prolymphocytic leukemia. Hematol/Oncol Clin North Am 1990; 4:457-471.
10. Melo JV, Catovsky D, Galton DAG. The relationship between chronic lymphocytic leukaemia and prolymphocytic leukaemia. I. Clinical and laboratory features of 300 patients and characterization of an intermediate group. Br J Haematol 1986; 63:377-387.
11. Hernández Nieto L, Lampert IA, Catovsky D. Bone marrow histological patterns in B-cell and T-cell prolymphocytic leukemia. Hematol Path 1989; 3:79-84.
12. Lampert IA, Catovsky D, Marsh GW, Child JA, Galton DAG. The histopathology of prolymphocytic leukaemia with particular reference to the spleen: a comparison with chronic lymphocytic leukaemia. Histopatholgy 1980; 4:3-19.
13. Horning S, Shipp M, Harris N. A Lymphoma medley: Targeted therapy, dose intensification and differential diagnosis. En Hematology: Educational Program book, ASH 1998, Miami, Florida 1998: 89-111.
14. Brito-Babapulle V, Pittman S, Melo JV, Pomfret M, Catovsky D. Cytogenetic studies on prolymphocytic leukemia. I.B.-Cell prolymphocytic leukemia. Hematol Pathol 1987; 1:27-33.
15. Hernández JM, Mecucci C, Criel A. Cytogenetic analysis of B-cell chronic lymphoid leukemias classified according to morphologic and immunophenotypic criteria. Leukemia 1995; 9:2140-2146.
16. Hernández JM, Solé F, Arranz E et al. Registro Nacional de los estudios citogenéticos y de hibridación *in situ* en los síndromes linfoproliferativos de estirpe B: valor diagnóstico. Haematologica 1997; 82:227-231.
17. Ruchlemer R, Parry-Jones N, Brito-Babapulle V et al. B-prolymphocytic leukaemia with t(11;14) revisited: a splenomegalic form of mantle cell lymphoma evolving with leukaemia. Br J Haematol 2004; 125(3):330-336.
18. Davi F, Maloum K, Michell A et al. High frequency of somatic mutations in the VH genes expressed in prolymphocytic leukemia. Blood 1996; 88:3953-3961.
19. Catovsky D. Current approach to the biology and treatment of chronic lymphoid malignancies other than CLL. Hematol Cell Ther 1996; 38:563-566.
20. Döhner H, Ho AD, Thaler J. Pentostatin in prolymphocytic leukemia. Phase II trial of the EORTC leukemia cooperative study group. J Natl Cancer Inst 1993; 85:658-662.
21. Saven A, Lee T, Schlytz M et al. Major activity of cladribine with de novo-B-cell prolymphocytic leukemia. J Clin Oncol 1997; 15:37-43.
22. Osterborg A, Dyer MJ, Bunjes D et al. Phase II multicenter study of human CD25 antibody in previously treated chronic lymphocytic leukemia. European study group of CAMPATH-1H. Treatment in chronic lymphocytic leukemia. J Clin Oncol 1997; 15:1567-1574.
23. Mehta J, Powels R, Singhal S et al. Clinical and hematological response of CLL and PLL persisting after allogenic bone marrow transplantation with the onset of graft versus host-disease: possible role of graft versus leukemia. Bone Marrow Transplant 1996; 17:371-375.
24. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. World Health Organization (WHO) Classification of Tumours. Tumours of Haematopoietic and Lymphoid tissues. Lyon: ARC press, 2001; 189-230.
25. Matutes E, Brito-Bapapulle V, Swansbury J et al. Clinical and laboratory features of 78 cases of T-prolymphocytic leukemia. Blood 1991; 78:3269-3274.
26. Matutes E, García Talavera J, O'Brien M, Catovsky D. The morphological spectrum of T-prolymphocytic leukaemia. Br J Haematol 1986; 64:111-124.
27. Matutes E, Keeling DM, Newland AC et al. Sézary cell-like leukemia. A distinct type of mature T cell malignancy. Leukemia 1990; 4:262-266.
28. Pawson R, Matutes E, Brito-Babapulle V et al. Sézary leukaemia. A distinct T-cell disorder or a variant form of T-prolymphocyte leukaemia. Leukemia 1997; 11:1009-1013.
29. Mallet RB, Matutes E, Catovsky D et al. Cutaneous infiltration inT-cell prolymphocytic leukaemia. Br J Dermatol 1995; 132:263-266.
30. Yullie MAR, Coignet LJA, Abraham SM et al. ATM is usually rearranged in T-cell prolymphocytic leukaemia. Oncogene 1998; 16:789-796.
31. Thick J. Metcalfe JA, Mak Y-F et al. Expression of eithr TCL-1 oncogene or transcripts for its homologue MTVP1/c6.1B. in leukaemic and non-leukaemic T cells from ataxia telangiectasia patients. Oncogene 1996; 12:379-386.
32. Matutes E, Brito-Babapulle V, Dearden C et al. Prolymphocytic leucemia of B and T cell types:biology and therapy. En: Chelson B (ed.) Chronic Lymphoid Leukemias. Chapter 24, 2.ª ed. New York: Marcel Dekker, Inc, 2001.
33. Brito-Babapulle V, Promfret M, Matutes E, Catovsky D. Cytogenetic studies on prolymphocytic leukaemia. II. T cell prolymphocytic leukemia. Blood 1987; 70:926-931.
34. Maljaie SH, Brito-Babapulle V, Matutes E et al. Expression of c-myc oncoprotein in chronic T-cell leukemias. Leukemia 1995; 9:1694-1699.
35. Taylor AMR, Metcalfe JA, Thick J, Mak Y-F. Leukemia and lymphoma in ataxia telangiectasia. Blood 1996; 87:423-438.
36. Cavazzini F, Cuneo A, Bardi A, Castoldi G. Indolent T-cell prolymphocytic leukemia: a case report and a review of the literature. Am J Hematol 2003; 146(1):22-6.

CAPÍTULO 24

Leucemia linfática crónica

E. Montserrat

ÍNDICE

Introducción
Historia
Epidemiología
Etiología
- Alteraciones cromosómicas y genes
- Características del linfocito en la LLC
- Alteraciones de la inmunidad

Manifestaciones clínicas
Complicaciones
- Infecciones
- Fenómenos autoinmunes
- Transformación de la enfermedad
- Segundas neoplasias
- Pruebas de laboratorio

Diagnóstico
Diagnóstico diferencial
Pronóstico
Tratamiento
- Tratamiento específico
- Tratamientos adicionales

Objetivos del tratamiento
- Estrategia terapéutica

Bibliografía

INTRODUCCIÓN

La leucemia linfática crónica (LLC) es una enfermedad caracterizada por la proliferación y acumulación de linfocitos inmunoincompetentes de pequeño tamaño, aspecto maduro y fenotipo B. Las manifestaciones clínicas de esta enfermedad se deben a la infiltración progresiva de la médula ósea, ganglios linfáticos y otros tejidos por dichas células, así como a las alteraciones inmunológicas que acompañan a la enfermedad.

La LLC es la forma de leucemia más frecuente en los países occidentales que se presenta en personas de edad adulta, y su incidencia aumenta con la edad. El curso clínico es sumamente variable: la media de supervivencia es de unos 10 años, pero hay pacientes que fallecen al poco tiempo de ser diagnosticados y otros cuya esperanza de vida no se ve afectada por la enfermedad. Aunque en la mayoría de casos la LLC es una enfermedad incurable, en estos últimos años se han producido importantes progresos en su tratamiento.

HISTORIA

La primera descripción de la LLC la efectuó Türk en 1903[1,2]. En 1924, Minot e Isaacs llevaron a cabo los primeros estudios sobre las particularidades clínicas y evolutivas de la LLC[3]. Las bases de los conocimientos sobre esta forma de leucemia fueron establecidas por Galton en la Conferencia Burroughs Wellcome de 1965[4]. A su vez, Dameshek, en 1967, formuló la clásica definición de LLC como «enfermedad debida a la acumulación progresiva de linfocitos inmunoincompetentes»[5]. En 1975, Rai et al publicaron una clasificación de la LLC en estadios clínicos, lo que renovó el interés por esta enfermedad y dio un considerable impulso a los estudios clínicos y biológicos sobre la misma, desde una nueva perspectiva[6]. En 1979, bajo la iniciativa de Binet, se constituyó el International Workshop on CLL (IWCLL) que agrupa a investigadores de muy diversos campos particularmente interesados en la LLC y otros síndromes linfoproliferativos crónicos.

EPIDEMIOLOGÍA

La LLC es la leucemia más frecuente entre las personas adultas de los países occidentales. La edad media de los enfermos en el momento del diagnóstico es de unos 70 años, y la mayoría tienen 50 años o más. Predomina ligeramente en los varones (1,5:1)[7-9].

La incidencia global es de 3/100.000 y aumenta de forma muy marcada con la edad. Así, mientras en los sujetos de menos de 65 años la incidencia es 1,2/100.000, en aquellos de edad igual o superior a los 65 años es de 19,7/100.000 (Surveillance, Epidemiology and End Results, National Cancer Institute, 1997). La incidencia de la LLC varía según los países. En este sentido, mientras en EE.UU. y Europa la LLC representa alrededor del 30-40% de las leucemias, en los países orientales, como Japón o China, sólo constituye el 3-10% de todas las leucemias. Las poblaciones china y japonesa emigradas a países occidentales no tienen a lo largo de generaciones una mayor incidencia de LLC. Por otra parte, dentro de un mismo país puede haber variaciones geográficas en la incidencia de LLC[9].

Los estudios efectuados para intentar relacionar la LLC con las características socioeconómicas de los pacientes no han aportado resultados concluyentes. A diferencia de lo que ocurre en otras leucemias, no existe relación entre la LLC y la exposición a radiaciones ionizantes[9].

ETIOLOGÍA

La causa de la LLC no se conoce. Sin embargo, existen ciertos factores relacionados con la enfermedad[7-10]. El riesgo de padecer esta dolencia entre los familiares en primer grado de una persona con LLC se estima que es 2-7 veces superior al de los sujetos control. En alrededor del 10% de los parientes en primer grado de los pacientes con LLC es posible demostrar, mediante citometría de flujo, la presencia en sangre periférica de una población clonal con un inmunofenotipo idéntico al de la LLC. Dicha población también puede ponerse de manifiesto en el 2-3% de la población general[11,12]. El significado y la trascendencia clínica de este hecho se desconocen. En los casos de LLC familiar, la enfermedad aparece de forma más temprana, unos 10 a 15 años antes, en los miembros de la segunda generación (fenómeno de «anticipación»)[10].

Alteraciones cromosómicas y genes

Se hallan alteraciones cromosómicas en alrededor del 80% de casos. Las más frecuentes son: del(13q14) (55% de casos), del(11q22-q23) (18%), +(12q13) (16%), del(17p13) (7%) y del(6q21) (6%). En una tercera parte de los casos se asiste a la aparición de alteraciones citogenéticas adicionales durante el curso de la enfermedad[13-15].

La relación entre LLC y determinados genes (p. ej., *BCL-1*, *BCL-2*, *BCL-3*) dista de ser clara[16-18]. Así, en algunos casos de LLC se halla la t(11;14) (q13;q32), debido a la cual el gen *BCL-1*, localizado en condiciones normales en el cromosoma 11, se sitúa en el cromosoma 14, en una zona próxima al gen de las inmunoglobulinas. Sin embargo, dicha alteración es más propia del linfoma del manto. Por su parte, en unos pocos casos se ha encontrado la t(14;18) (q32;q21), propia de los linfomas foliculares. En condiciones normales, el gen *BCL-2* previene la apoptosis o muerte programada de las células. En la LLC, a pesar de la ausencia casi constante de la t(14;18), las proteínas BCL-2 se hallan habitualmente incrementadas, mientras que las del grupo BAX (favorecedoras de la apoptosis) suelen ser bajas; ello se relaciona con los defectos de la muerte celular programada de los linfocitos de la LLC y su acumulación, en forma de células en fase $G_{0/1}$ del ciclo celular, a lo largo del tiempo. En algunos casos se ha descrito la t(14;19) (q32;q13) relacionada con un cambio posicional del gen *BCL-3*. Por último, en el brazo largo del cromosoma 13 (13q14) se han descrito diversos genes que podrían desempeñar un papel importante en el origen de la LLC. Asimismo, alrededor del 20% de casos presentan defectos del gen *ATM* (gen de la ataxia-telangiectasia), situado en el brazo largo del cromosoma 11.

Características del linfocito en la LLC

El linfocito B de la LLC forma parte de las células B CD5+. De forma característica, posee inmunoglobulinas de superficie (SmIg), aunque en número inferior a la de los linfocitos normales. Estas SmIg son IgM o IgM + IgD, y sus cadenas ligeras son kappa o lambda. Además, el linfocito de la LLC tiene antígenos de superficie característicos de los linfocitos B (HLA-DR, CD19, CD20, CD21, CD23, CD24). Los genes de las inmunoglobulinas se hallan reordenados con un patrón idéntico (reordenamiento monoclonal).

La contrapartida normal del linfocito de la LLC se halla en la zona del manto de los folículos linfoides. Alrededor del 50% de casos tienen mutaciones somáticas de los genes de las inmunoglobulinas (IgV_H), lo que sugiere un origen de la enfermedad en células B posgerminales, con memoria inmunológica. En el resto de casos, los genes IgV_H no están mutados; en tales casos, la LLC surgiría a partir de células B pregerminales[19,20].

Alteraciones de la inmunidad

La hipogammaglobulinemia es una manifestación usual de la enfermedad (20-60% de casos). El origen de la hipogammaglobulinemia es, posiblemente, multifactorial: alteraciones funcionales de las células B, infiltración masiva de la médula ósea con disminución de las células productoras de inmunoglobulinas, alteraciones en las subpoblaciones T, actividad supresora de las células NK, intervención de diversas citocinas. También se han descrito alteraciones del complemento y de la función granulomonocitaria. Debido a la hipogammaglobulinemia, se considera que los enfermos no producen cantidades adecuadas de anticuerpos después de ser vacunados, y están especialmente predispuestos a contraer infecciones[7,8,21].

Se han descrito diversas alteraciones de los linfocitos T. Entre ellas, las más importantes son el incremento en la cifra absoluta de los mismos y la alteración del cociente CD4/CD8 en sangre periférica; en la médula ósea, sin embargo, las células $CD4^+$ se hallan incrementadas. El crecimiento de colonias de linfocitos T en cultivo suele estar disminuido. También se han descrito alteraciones en la actividad T colaboradora. Todas estas anomalías se atribuyen a la secreción por parte de los linfocitos B neoplásicos de diversas citocinas. El papel de estas citocinas (p. ej., IL-2, IL-4, IL-6, TNF) en la patogenia y en las alteraciones inmunológicas de la LLC es complejo, pero se sabe que intervienen de forma paracrina o autocrina en la patogenia de la enfermedad. En muchos casos, existe una

expresión anómala del ligando para el receptor CD40 en los linfocitos T, lo que dificultaría la función de inmunorregulación de los linfocitos T sobre los B neoplásicos. Por otra parte, los pacientes con LLC tienen disminuida la actividad *natural killer* (NK), pero el número de células NK suele ser normal o incluso está incrementado[7,8,16,18].

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Más de la mitad de los casos de LLC se descubre de forma casual, en personas asintomáticas, al detectarse en una analítica efectuada por razones varias una leucocitosis con linfocitosis. En el resto de casos, la astenia, la aparición de adenopatías o las infecciones repetidas son las manifestaciones que llevan al diagnóstico. A diferencia de lo que ocurre en los linfomas, la fiebre, sudoración y pérdida de peso son poco frecuentes como forma de presentación de la enfermedad[7,8].

La exploración física puede ser completamente normal. En cerca del 40% de pacientes se detectan adenopatías de carácter simétrico. Las adenopatías mediastínicas o la infiltración del anillo linfático de Waldeyer son sumamente infrecuentes. El bazo suele palparse en el 20-30% de los casos. No es extraño el hallazgo de hepatomegalia. De forma excepcional, pueden detectarse infiltrados linfoides en diversos tejidos, como piel, riñón, glándulas lagrimales o salivales, pulmón u otros. En estos casos, sin embargo, es obligado descartar una segunda neoplasia o la progresión de la enfermedad a linfoma. Se han descrito casos de síndrome nefrótico acompañando a la LLC, así como de hipertensión portal por hiperplasia nodular regenerativa del hígado, inducida por la infiltración linfoide del mismo[7,8].

Cabe destacar que determinadas alteraciones citogenéticas se correlacionan con formas de la enfermedad con peculiaridades clínicas y evolutivas (tabla 24.1)[14,15]. Así, la trisomía 12 cursa con la presencia en sangre periférica de linfocitos de morfología atípica, sobre todo prolinfocitos, y marcadores inmunofenotípicos poco habituales en la LLC, como la positividad para el FMC7. A su vez, la del(11q) se observa sobre todo en varones relativamente jóvenes, con formas tumorales de la enfermedad, progresivas y resistentes al tratamiento. Por último, la del(17p) es frecuente en las transformaciones de la enfermedad, y se asocia con mala respuesta a la quimioterapia.

TABLA 24.1

LLC: correlación entre anomalías citogenéticas y características clinicoevolutivas

Anomalía citogenética	Características
del(13q) aislada	Buen pronóstico
Trisomía 12	Presencia de prolinfocitos en sangre periférica Inmunofenotipo atípico (p. ej., FMC7$^+$, CD11c$^+$) Sin influencia en el pronóstico
del(6q)	Pacientes jóvenes, predominio en varones, formas tumorales de la enfermedad Sin influencia en el pronóstico
del(11q)	Pacientes jóvenes, predominio en varones, formas tumorales de la enfermedad y resistentes al tratamiento Mal pronóstico
del(17p)	Formas progresivas de la enfermedad, resistencia al tratamiento Muy mal pronóstico

COMPLICACIONES

Las complicaciones más frecuentes son las infecciones, los fenómenos autoinmunes, la transformación de la enfermedad y las segundas neoplasias.

Infecciones

Se observan sobre todo en las fases avanzadas de la enfermedad, y se deben a las alteraciones de la inmunidad que acompañan a la LLC y a las complicaciones derivadas del tratamiento. Son, sobre todo, de origen bacteriano y de localización pulmonar; las infecciones virales, en especial por virus herpes, son asimismo muy frecuentes. En los pacientes tratados con análogos de las purinas o anticuerpos monoclonales (v. «Tratamiento») no son raras las infecciones por agentes oportunistas (p. ej., *Pneumocystis carinii*, CMV, *Legionella* sp., *Listeria* sp., micobacterias atípicas). Las infecciones son la primera causa de morbilidad y mortalidad[7,8,21].

Fenómenos autoinmunes

La prueba de Coombs es positiva en el 15-35% de casos, bien al inicio de la enfermedad, bien durante su evolución. Los anticuerpos suelen ser del tipo IgG. En ocasiones, la positividad de la prueba de Coombs no va acompañada de una anemia hemolítica franca. Otras veces, es el tratamiento quimioterápico el que precipita la aparición de una *hemólisis autoinmune* clínicamente evidente. Menos frecuente es la *trombocitopenia de tipo inmune*. En raras ocasiones, la LLC se asocia con una *aplasia pura de la serie roja*, cuyo diagnóstico, cuando la médula ósea está intensamente infiltrada por linfocitos, no siempre es fácil[7,8,22,23].

Transformación de la enfermedad

La forma más habitual (5-10% de casos) es la *transformación prolinfocitoide*, situación en la que en la sangre periférica coexisten linfocitos maduros con prolinfocitos (arbitrariamente, hasta el 55%, a partir del cual se establece el diagnóstico de leucemia prolinfocítica)[24]. A su vez, en el 3-10% de los pacientes se asiste a la aparición de un linfoma de células grandes (*síndrome de Richter*), posibilidad que debe sospecharse siempre que el paciente sufra un empeoramiento inexplicado del estado general, fiebre, aumento del tamaño de los ganglios linfáticos o del bazo, incremento de la LDH sérica o hipercalcemia[25,26]. En cerca de la mitad de los casos, el linfoma surge a partir de la transformación de la clona propia de la LLC y el fenómeno de la transformación se asocia con la infección por el VEB. A diferencia de lo que ocurre en la leucemia mieloide crónica, es excepcional que la LLC acabe en

forma de *leucemia aguda* (menos del 0,1% de casos). Asimismo, también es posible la aparición de un *mieloma múltiple* que, en la mayoría de casos, corresponde a un fenómeno *de novo*, no relacionado con la clona celular de la LLC[27].

Segundas neoplasias

La incidencia de neoplasias en los enfermos con LLC es superior a la de la población general. Alrededor del 10% de los pacientes presentan esta complicación. Se trata, por lo general, de carcinomas de piel, tubo digestivo y pulmón. Las segundas neoplasias pueden aparecer de forma previa, simultánea o tras el diagnóstico de la LLC, en cuyo caso no guardan necesariamente relación con el tratamiento.

De forma más excepcional, también se han descrito casos de LLC asociados con la enfermedad de Hodgkin, leucemia mieloide crónica, trombocitemia esencial, policitemia vera, tricoleucemia, mielodisplasias o leucemia aguda mieloblástica[7,8,28].

Pruebas de laboratorio

El dato más característico es la leucocitosis, que suele estar comprendida entre 20 y 150 × 10^9/L, con una linfocitosis superior al 75%. Los linfocitos son de pequeño tamaño, con un núcleo redondeado, cromatina condensada en grumos y escaso citoplasma; estas células son anormalmente frágiles, y se rompen con facilidad al efectuar las extensiones de sangre periférica, dando lugar a las típicas sombras de Gumprecht (fig. 24.1). Puede haber un pequeño porcentaje, en general inferior al 10%, de otros linfocitos (prolinfocitos, centrocitos, centroblastos)[29,30].

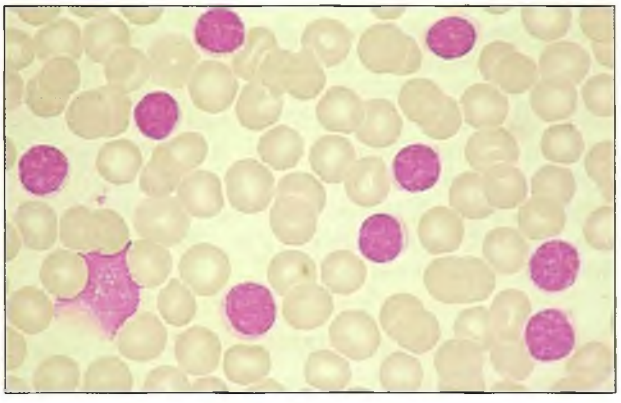


Figura 24.1. Leucemia linfática crónica. Extensión de sangre periférica en la que se observan abundantes linfocitos de tamaño pequeño y aspecto maduro y una sombra de Gumprecht.

En el 15-20% de casos se observa anemia de forma inicial. La plaquetopenia es menos frecuente. Las concentraciones séricas de ácido úrico, LDH, beta-2-microglobulina y bilirrubina total pueden elevarse. La hipogammaglobulinemia es muy frecuente (20-60% de casos), sobre todo en los pacientes con enfermedad avanzada. En el 5-10% de casos puede detectarse una gammapatía monoclonal (sobre todo, IgM o IgG).

Mediante el estudio por FISH se hallan alteraciones citogenéticas en el 80% de casos, siendo las alteraciones más frecuentes la del(13q14) (55% de casos), del(11q22-q23) (18%), +(12q13) (16%), del(17p13) (7%) y del(6q21) (6%)[13-15].

El aspirado de médula ósea revela una infiltración por elementos linfoides, por lo general superior al 30%. En la biopsia medular se han definido diferentes patrones de infiltración: *nodular, intersticial, mixto* y *difuso*[31] . El grado de infiltración de la médula ósea es un buen reflejo de la masa tumoral (fig. 24.2). A efectos de la valoración pronóstica de la enfermedad es suficiente con distinguir la infiltración difusa y la no difusa.

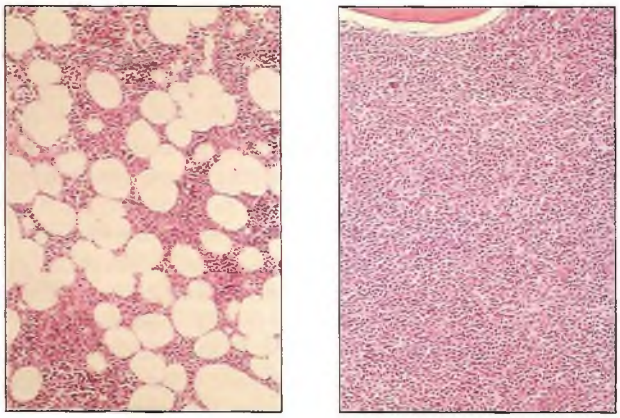


Figura 24.2. Leucemia linfática crónica. Biopsia de médula ósea: a la *izquierda* se observa un patrón infiltrativo no difuso, propio de las fases iniciales de la enfermedad, y a la *derecha* un patrón difuso que se observa en los estadios avanzados y es un dato de mal pronóstico.

Los ganglios linfáticos presentan una infiltración difusa por linfocitos de pequeño tamaño. Al lado de linfocitos de aspecto maduro pueden observarse otros de aspecto atípico. Se distinguen tres patrones histopatológicos: *a*) *difuso*: infiltración prácticamente absoluta por linfocitos pequeños; *b*) *seudofolicular*: existencia de agregados celulares formados por prolinfocitos y parainmunoblastos (que aparecen como centros claros en el corte histológico), y *c*) *tumoral*: amplias zonas del ganglio linfático se hallan infiltradas por abundantes linfocitos atípicos y, ocasionalmente, células que recuerdan a las de Reed-Sternberg[32].

En el bazo hay una infiltración que ocupa, principalmente, la pulpa blanca en forma de nódulos linfoides, sin centro claro reactivo; la pulpa roja, sin embargo, también puede hallarse infiltrada. En las fases más avanzadas del proceso puede haber infiltración de los sinusoides esplénicos y de los cordones medulares[33].

DIAGNÓSTICO

El International Workshop on CLL[34] y el National Cancer Institute-Sponsored Working Group[35] han propuesto, de forma independiente, una serie de requisitos mínimos para el diagnóstico de LLC. En esencia, son los siguientes: *a*) linfocitosis mantenida, por lo general superior a 10 × 10^9/L; *b*) morfología típica, con menos del 10% de células de aspecto inmaduro; *c*) fenotipo compatible con LLC: expresión de cadenas kappa o lambda; SmIg de poca intensidad; positividad para los antígenos CD5, CD19, CD20 (débil) y CD23, y *d*) infiltración de la médula ósea superior al 30% y/o biopsia medular compatible con LLC.

Sin embargo, el diagnóstico de LLC puede establecerse siempre que se demuestre un incremento en la cifra de linfo-

citos en sangre periférica, de naturaleza clonal y con el inmunofenotipo característico de la enfermedad, sin que sea imprescindible demostrar la infiltración de la médula ósea.

Desde el punto de vista morfológico, no todos los casos de LLC tienen el aspecto típico de esta enfermedad. Al lado de *formas típicas*, en las que la proporción de linfocitos atípicos en sangre periférica es igual o inferior al 10%, existen *formas atípicas*, en las que existe una proporción variable de células linfoides atípicas (sobre todo prolinfocitos, pero también en ocasiones linfocitos grandes y, más raramente, células hendidas o centrocitos). Estas últimas suelen asociarse a la trisomía 12, como alteración citogenética, y también muestran un inmunofenotipo atípico (p. ej., $CD5^-$, $FMC7^-$, $CD11c^+$, SmIg de fuerte intensidad)[30]. Como norma, no debe aceptarse el diagnóstico de LLC atípica sin haber descartado antes otras posibilidades diagnósticas (v. «Diagnóstico diferencial»).

Además de las pruebas meramente diagnósticas, los pacientes con LLC deben someterse a una serie de exploraciones con el fin de valorar el grado de carga tumoral, las complicaciones y el pronóstico de la enfermedad. En la tabla 24.2 se muestran las pruebas fundamentales para el estudio de los enfermos con LLC.

TABLA 24.2

LLC: exploraciones al diagnóstico

En todos los casos

Anamnesis:
- Antecedentes familiares de LLC u otras neoplasias (?)
- Antecedentes personales de infecciones, neoplasias (?)
- Enfermedades asociadas (?)

Exploración física:
- Adenopatías
- Esplenomegalia
- Hepatomegalia

Laboratorio:
- Hemograma completo, incluyendo recuento de reticulocitos
- Recuento de plaquetas
- Prueba de Coombs
- Pruebas de funcionalismo hepático y renal
- Serología para virus de hepatitis
- LDH sérica
- Beta-2-microglobulina sérica
- Proteinograma
- Aspirado/biopsia de médula ósea
- Marcadores celulares

En casos seleccionados
- Biopsia ganglionar
- Biopsia de tejidos u órganos presumiblemente afectos
- TC toracoabdominal y otras pruebas de imagen
- Dosificación de inmunoglobulinas séricas
- Inmunoelectroforesis
- Citogenética
- Biología molecular

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

El diagnóstico de los síndromes linfoproliferativos con expresión leucémica se basa, fundamentalmente, en el estudio integrado de la morfología de las células leucémicas y de su inmunofenotipo. Asimismo, la citogenética y la biología molecular pueden aportar información muy importante para el diagnóstico.

El diagnóstico de la mayor parte de las LLC no suele presentar excesivas dificultades. Con todo, en algunos casos pueden plantearse dudas con otros síndromes linfoproliferativos[29,36,37]. En la tabla 23.2a se muestran las principales características inmunofenotípicas de la LLC y otros síndromes linfoproliferativos de células B con los que puede plantearse el diagnóstico diferencial.

La *leucemia prolinfocítica* cursa con leucocitosis extremas (por lo general, superiores a 100×10^9/L) con abundantes prolinfocitos (> 55%) en sangre periférica y esplenomegalia. Los prolinfocitos son de mayor tamaño que los linfocitos, poseen nucléolos y tienen más citoplasma. A diferencia de los linfocitos de la LLC, los prolinfocitos poseen SmIg intensa, y son FMC7 y CD79b positivos y CD23 negativos. En cerca de las dos terceras partes de los enfermos se halla un cromosoma marcador $14q^+$ (14q32), y con menos frecuencia puede detectarse la t(11;14) (q13;q32). Por otra parte, cabe señalar que existen formas intermedias entre la LLC y la LPL. Así, por ejemplo, en la denominada LLC/LPL el número de prolinfocitos en sangre periférica se sitúa entre el 11 y el 54%. Mientras en algunos casos el cuadro de LLC/LPL es patente desde el diagnóstico, en otros se asiste a la progresiva aparición de prolinfocitos en un paciente previamente diagnosticado de LLC clásica.

La *tricoleucemia* también puede plantear problemas de diagnóstico diferencial, sobre todo en su forma *variante*, en la que la cifra de leucocitos es alta y los linfocitos tienen una morfología intermedia entre los prolinfocitos y los tricoleucocitos. En la forma clásica las células de la tricoleucemia son fuertemente positivas para la SmIg, y expresan antígenos pan-B, así como CD25, CD11c y CD103. Las formas variantes suelen ser CD25 y CD103 negativas. El diagnóstico diferencial con los linfomas foliculares leucemizados suele ser fácil debido a la presencia en éstos de células centrofoliculares, con el núcleo habitualmente hendido, fuerte positividad de la SmIg, negatividad del CD5 y ocasional positividad para el CD10 y CD22. En el 80% de casos se halla la t(14;18).

En el llamado *linfoma esplénico de células vellosas* (linfoma de la zona marginal del bazo) lo más llamativo es la esplenomegalia, moderada leucocitosis con linfocitos, que recuerdan los de la tricoleucemia, frecuente componente M en suero y marcadores de membrana parecidos a los que se observan en la tricoleucemia.

Más difícil puede resultar el diagnóstico diferencial con el *linfoma de células del manto leucemizado*, ya que en él los linfocitos son $CD5^+$, al igual que los de la LLC. Sin embargo, el linfoma de células del manto suele ser $CD23^-$ y tiene una alteración cromosómica característica, la t(11;14) (q13;q32).

En los *linfomas linfoplasmocitoides* puede observarse una moderada leucocitosis, con células linfoplasmocitarias; en el suero existe un componente monoclonal IgM (macroglobulinemia de Waldenström).

Además de los síndromes linfoproliferativos B, deberán tenerse en cuenta los de origen celular T (leucemia prolinfocítica, síndrome de Sézary, leucemia/linfoma T del adulto), así como la leucemia de linfocitos grandes granulares (v. Capítulo 23).

PRONÓSTICO

El curso clínico es muy variable. La mediana de supervivencia es de 8-10 años. Mientras algunos pacientes fallecen pocos meses después del diagnóstico, otros no ven modificada su esperanza de vida. De forma excepcional (1% de casos) puede asistirse a la remisión «espontánea» de la enfermedad, a veces después de que el enfermo haya sufrido una infección viral.

La introducción de estadios clínicos significó un gran avance en el pronóstico de la LLC. Los sistemas más utilizados son los de Rai[6] y Binet[38] (tablas 24.3 y 24.4). Además de los estadios clínicos, el grado de infiltración de la médula ósea[39,40], la cifra de linfocitos en sangre periférica[41], el tiempo de duplicación linfocitario [42], el número de prolinfocitos en sangre periférica[43] y las alteraciones citogenéticas[14,15] son los parámetros pronósticos más importantes. El valor de otros datos, como edad, sexo, fenotipo linfocitario, tasa de LDH, beta-2-microglobulina y timidina-cinasa sérica o concentraciones séricas de CD22 o CD23 es más controvertido[44-46]; de todos ellos, los más importantes son la tasa de beta-2-microglobulina y timidina-cinasa séricas.

Por otra parte, las formas con mutaciones somáticas de los genes IgV_H tienen mejor pronóstico que aquellas en las que dichos genes no se hallan mutados. La expresión de CD38 parece relacionarse de forma inversa con las mutaciones de los genes IgV_H aunque su expresión puede variar a lo largo del tiempo, razón por la cual no se considera un buen equivalente de las mutaciones de los genes IgV_H[19,20,47]. Recientemente, se ha demostrado que la expresión de la proteína ZAP-70 en los linfocitos B neoplásicos propios de la LLC se correlaciona de forma muy estrecha con las mutaciones de los genes IgV_H, y su determinación, que puede hacerse mediante citometría de flujo, tiene importante valor pronóstico (fig. 24.3)[48,49].

TABLA 24.3

LLC: estadios de Rai

Categoría	Mediana de supervivencia (años)	Supervivencia a los 10 años (%)
Riesgo bajo Estadio 0 – linfocitosis aislada	16	65
Riesgo intermedio Estadio I – linfocitosis + adenopatías Estadio II – linfocitosis + hepatomegalia y/o esplenomegalia	8	45
Riesgo alto Estadio III – linfocitosis + anemia (Hb < 11 g/dL) Estadio IV – linfocitosis + plaquetopenia (plaquetas < 100 × 10^9/L)	2,5	15

Datos de supervivencia basados en una serie de 591 casos de la Escuela de Hematología Farreras-Valentí.

TABLA 24.4

LLC: estadios de Binet

Categoría	Mediana de supervivencia (años)	Supervivencia a los 10 años (%)
Riesgo bajo Estadio A – linfocitosis < 3 áreas linfoides* afectas	15	65
Riesgo intermedio Estadio B – linfocitosis ≥ 3 áreas linfoides* afectas	5	25
Riesgo alto Estadio C – anemia (Hb < 100 g/L) y/o plaquetopenia (< 100 × 10^9/L)	2,5	15

* Las áreas linfoides que se consideran en este sistema son: *1*) adenopatías cervicales y/o supraclaviculares; *2*) adenopatías axilares; *3*) adenopatías inguinales (con independencia de que sean uni o bilaterales); *4*) hígado, y *5*) bazo.
Datos de supervivencia basados en una serie de 591 casos de la Escuela de Hematología Farreras-Valentí.

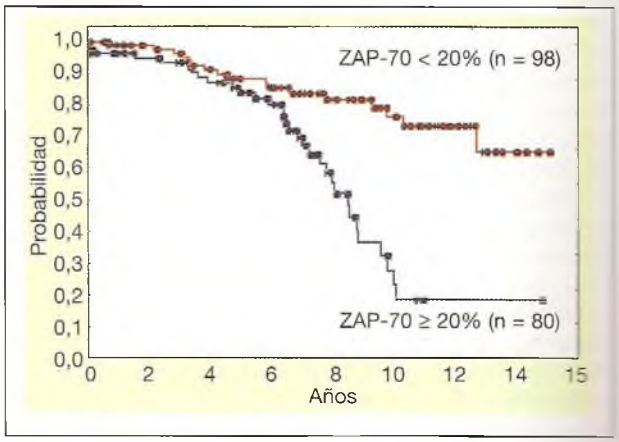


Figura 24.3. LLC: supervivencia según la expresión de ZAP-70.

TRATAMIENTO

El tratamiento sólo está justificado cuando existen síntomas debidos a la enfermedad o cuando ésta muestra signos de progresión. En esencia, debe iniciarse tratamiento ante cualquiera de las siguientes circunstancias: *a*) presencia de síntomas generales (cansancio extremo, fiebre, sudoración, pérdida de peso); *b*) existencia de adenopatías o esplenomegalia de gran tamaño y que causan molestias; *c*) infecciones de repetición con hipogammaglobulinemia; *d*) descenso paulatino de la tasa de hemoglobina o de la cifra de plaquetas; *e*) anemia hemolítica autoinmune que no responde a los corticosteroides, y *f*) tiempo de duplicación linfocitario rápido (< 12 meses). Cabe destacar que una cifra elevada de leuco-

citos, por sí sola, no justifica el tratamiento. De igual manera, la presencia de hipogammaglobulinemia no es suficiente para indicar tratamiento, a no ser que la misma vaya acompañada de infecciones de repetición. Por último, la edad no es por sí misma una razón para tratar al enfermo.

Los estadios clínicos son una importante guía para tratar a los enfermos con LLC. Así, en los que se hallan en estadios precoces de la enfermedad (estadio A) no existe ninguna prueba de que el tratamiento sea beneficioso[50,51]. Por ello, estos enfermos no deben tratarse a no ser que progrese la enfermedad. Por otro lado, en los pacientes con formas avanzadas y *sintomáticas* de LLC (estadios B y C) el tratamiento es obligado, ya que su esperanza de vida es inferior a 5 años. Las medidas disponibles para el tratamiento de la LLC se exponen a continuación[6,7].

Tratamiento específico

Quimioterapia

El tratamiento clásico de la LLC durante muchos años ha consistido en clorambucilo administrado por vía oral en dosis de 6-8 mg/día, o de forma intermitente (0,4-0,8 mg/kg cada 15 o 30 días), ajustando la dosis a la respuesta y a la toxicidad hematológica. Las respuestas con ambas formas de tratamiento son comparables (60% de respuestas globales; 5-10% de respuestas completas [RC]). Sin embargo, la toxicidad hematológica es menor si se emplea la pauta intermitente. Para que el tratamiento resulte efectivo debe efectuarse durante 6-8 meses. Su prolongación más allá de este período no aporta ventaja alguna. La ciclofosfamida es una alternativa al tratamiento con clorambucilo; suele administrarse en dosis de 50-100 mg p.o. y día, o de 750 mg/m^2 i.v. cada 2 a 4 semanas. Los corticosteroides se administran en general junto con agentes alquilantes. Como agentes únicos se utilizan en dosis de 30-60 mg/día en la anemia hemolítica autoinmune y en la trombocitopenia inmune. Algunos casos de LLC resistentes al tratamiento pueden responder de forma transitoria a dosis elevadas de corticosteroides (p. ej., prednisolona 100 mg/día, durante 5 días).

El clorambucilo se ha visto reemplazado en estos últimos años por los análogos de las purinas (fludarabina, 2-desoxicoformicina (2-DCF) y 2-clorodesoxiadenosina (2-CDA). De todos ellos, la fludarabina es el agente que se utiliza con mayor frecuencia, en dosis de 25 mg/m^2/día, durante 5 días, cada 4 semanas, si se administra de forma intravenosa, y a razón de 40 mg/m^2 si es por vía oral. La tasa de respuestas se sitúa en el 25-50%. Las respuestas, sin embargo, no se mantienen, y todos los enfermos acaban por recaer. La media de intervalo libre de enfermedad en los enfermos que responden es de unos 5 años. La combinación de fludarabina con corticosteroides no depara una tasa de respuestas superior a la que se alcanza con fludarabina sola. Los principales efectos secundarios de los análogos de las purinas son la mielodepresión y la inmunodepresión. Debido a ello, los enfermos pueden presentar infecciones que suelen ser causadas por agentes oportunistas (p. ej., *Listeria* sp., *Pneumocystis carinii*, CMV, *Legionella* sp., toxoplasma, micobacterias), así como por virus del grupo herpes. Por ello, es recomendable la profilaxis de tales infecciones (p. ej., mediante el empleo de cotrimoxazol y aciclovir)[52-54].

Debido a que la tasa de RC que se obtiene con los análogos de las purinas como agentes únicos no rebasa el 25 a 30%, y al sinergismo de estos agentes con otros citostáticos (p. ej., mitoxantrona, ciclofosfamida), existe un interés creciente en el empleo de los análogos de las purinas combinados con otros citostáticos y/o anticuerpos monoclonales (ciclofosfamida, mitoxantrona, rituximab, alemtuzumab). Aunque los resultados de algunos de estos estudios son prometedores (tasa de remisiones del 80-90% con un 40-60% de RC), el empleo de análogos de las purinas combinados con otros fármacos sólo está justificado dentro de ensayos clínicos. Por otra parte, este tratamiento es el de elección para los pacientes que no responden o que recaen tras el empleo de agentes alquilantes[55,56].

Radioterapia

La radioterapia se utiliza fundamentalmente como tratamiento paliativo de los síntomas relacionados con la esplenomegalia o adenopatías de gran tamaño[8].

Esplenectomía

Puede ser útil para aliviar los síntomas debidos a una esplenomegalia de gran tamaño (hiperesplenismo, molestias mecánicas). Su indicación debe valorarse cuidadosamente, ya que los pacientes con LLC, debido a su edad por lo general avanzada y a la frecuencia con que presentan enfermedades asociadas, suelen ser de alto riesgo quirúrgico. La mortalidad ligada a la esplenectomía convencional es de alrededor del 7%[8]. Por ello, la esplenectomía laparoscópica es preferible a la convencional.

Inmunoterapia

El Campath 1H es un anticuerpo monoclonal dirigido contra el antígeno CD52, presente en linfocitos y monocitos, pero no en las células de la serie roja y plaquetaria, que se ha mostrado eficaz en el tratamiento de la LLC. Al igual que los análogos de las purinas, produce una importante inmunodepresión, con ocasionales infecciones oportunistas, particularmente por CMV. A su vez, en algunos estudios en fase II el rituximab ha demostrado tener cierta eficacia en la LLC, sobre todo cuando se combina con agentes citostáticos como la fludarabina y/o la ciclofosfamida. En los casos con leucocitosis marcada, puede observarse un síndrome caracterizado por un descenso muy rápido de la cifra de leucocitos en sangre periférica, trombocitopenia, fiebre, escalofríos, hipoxemia y broncospasmo, acompañado en ocasiones de datos de laboratorio propios del síndrome de lisis tumoral (hiperuricemia, hipocalcemia, hiperfosfatemia, hiperpotasemia, incremento de la LDH sérica). Dicha complicación se considera debida a la rápida lisis de los linfocitos y a la liberación masiva de citocinas[55,56].

Al igual que en otras neoplasias hematológicas, los factores de crecimiento (G-CSF, GM-CSF) pueden ser útiles para minimizar la toxicidad medular ligada al tratamiento. La eritropoyetina, a su vez, puede ser útil en casos de anemia por insuficiencia medular y que no responda a otras medidas terapéuticas[8].

Trasplante de precursores hematopoyéticos

Debido a que la LLC es una enfermedad incurable con los tratamientos convencionales, cada vez son más los pacientes con esta forma de leucemia en los que se considera, y eventualmente se lleva a cabo, un trasplante de precursores hematopoyéticos (TPH)[57-59,60]. Sin embargo, el papel de los

TPH en la estrategia terapéutica de la LLC no se ha establecido en estudios controlados, por lo que sólo están justificados dentro de ensayos clínicos.

En cuanto a los trasplantes autólogos, la mortalidad directamente ligada al procedimiento es inferior al 10% y los resultados dependen de forma muy importante de la sensibilidad de la enfermedad al tratamiento. Aunque todos los enfermos acaban por recaer (el 50% a los 5 años del trasplante), la supervivencia podría verse incrementada en algunos enfermos.

Con respecto a los trasplantes alogénicos, la mortalidad ligada al procedimiento es del 30-50%. Sin embargo, a diferencia de lo que se observa con los trasplantes autólogos, la tasa de recaídas es baja (10-15%), y alrededor del 40-60% de los enfermos disfrutan de una remisión mantenida. Este hecho se debe al efecto del injerto contra el tumor. Debido a la alta mortalidad que acompaña a los trasplantes alogénicos y a la avanzada edad de la mayoría de enfermos con LLC, el número de trasplantes alogénicos con regímenes de acondicionamiento no mieloablativos (con los que se pretende reducir la mortalidad peritrasplante y aumentar el límite de edad de los enfermos que se pueden trasplantar) está aumentando de forma sustancial, con resultados sumamente alentadores. (V. Capítulo 39.)

Tratamientos adicionales

Infecciones

La gammaglobulina intravenosa en dosis elevadas se ha mostrado bastante eficaz en la prevención de algunas infecciones; sin embargo, su alto coste económico hace que no sea una medida terapéutica que pueda utilizarse de forma sistemática. Las infecciones deben tratarse con antibióticos de amplio espectro. La posibilidad de infecciones oportunistas deberá tenerse siempre presente, en particular en los enfermos tratados con análogos de las purinas[8].

Citopenias inmunes

En las anemias y plaquetopenias de mecanismo inmune que no responden a prednisona, citostáticos o esplenectomía, puede ensayarse la ciclosporina o el rituximab.

OBJETIVOS DEL TRATAMIENTO

El objetivo del tratamiento es prolongar la supervivencia de los enfermos y mejorar su calidad de vida. Debido a que la influencia de la enfermedad en la supervivencia de los pacientes es sumamente variable, las indicaciones terapéuticas deben hacerse tomando en cuenta los factores pronósticos y la edad del paciente. Mientras el empleo de tratamientos paliativos (p. ej., clorambucilo) es aceptable en los pacientes de edad avanzada con enfermedad poco agresiva, en los individuos jóvenes que precisan tratamiento, los objetivos del tratamiento deben ser más ambiciosos. Por desgracia, no existe un tratamiento curativo para la LLC. Por ello, siempre que sea posible, los enfermos deberían incluirse en ensayos clínicos encaminados a encontrar terapias más eficaces para esta enfermedad. Fuera de los ensayos clínicos, el tratamiento debe basarse en los factores de riesgo.

Estrategia terapéutica

A continuación se expone el tratamiento más aconsejable en cada situación de acuerdo con las pruebas existentes de su eficacia.

Pacientes con LLC asintomática y sin signos de progresión

La mayoría de pacientes en estadios iniciales (Binet A, Rai 0) pertenecen a esta categoría, y sólo precisan ser controlados cada 3-6 meses. El tratamiento sólo está indicado en caso de progresión de la enfermedad. Aunque la mayor parte de los enfermos en estadio intermedio y avanzado (Binet B, Rai I-II) presentan síntomas o datos objetivos de progresión (p. ej., tiempo de duplicación de los linfocitos en sangre periférica < 12 meses), algunos presentan un curso clínico poco agresivo, por lo que tampoco requieren tratamiento de forma inicial.

Pacientes con LLC sintomática o con signos de progresión

La mayoría de enfermos en estadio intermedio y avanzado (Binet B, Rai I-II) muestran síntomas o pruebas de que la enfermedad está en progresión. Aunque el clorambucilo ha sido el fármaco más utilizado en las dos últimas décadas en el tratamiento de la LLC, los análogos de las purinas, particularmente la fludarabina, son el tratamiento de elección para la mayoría de enfermos.

Pacientes con citopenias de mecanismo inmune

Estos enfermos deben tratarse con corticosteroides, añadiéndose agentes citotóxicos en caso de que no se observe respuesta tras 2-4 semanas de tratamiento. En casos resistentes deberá considerarse la práctica de una esplenectomía. Asimismo, la ciclosporina o el rituximab pueden ser eficaces en la AHAI que no responde a los corticosteroides.

Pacientes con hiperesplenismo

La esplenectomía laparoscópica puede ser muy útil en los casos que no responden a la quimioterapia.

Pacientes refractarios al tratamiento

Los enfermos que no responden a los análogos de las purinas o que progresan dentro de los 6 primeros meses de su administración, tienen un pronóstico muy malo, con una supervivencia que se mide en meses (media, 8-10). En estos enfermos la posibilidad de llevar a cabo un trasplante alogénico de médula ósea debería ser formalmente considerada.

Tratamiento para las complicaciones sistémicas

La hipogammaglobulinemia es frecuente en la LLC, y es la mayor causa de infecciones. Para prevenir las infecciones se han utilizado inmunoglobulinas en dosis elevadas, pero el coste/beneficio de esta medida es cuestionable. Los factores de crecimiento hematopoyético pueden ser útiles en las neutropenias secundarias al tratamiento. Finalmente, la eritropoyetina puede ser eficaz en las anemias resistentes.

Transformación de la LLC

El tratamiento es el de los linfomas agresivos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Videbaek A. Chronic lymphocytic leukemia: Historical aspects. En: Polliack A, Catovsy D (eds.) Chronic Lymphocytic Leukemia. Harwood Academic Publishers Chur 1988; 1-9.

CAPÍTULO 25

Linfomas no hodgkinianos. Bases citoevolutivas y funcionales. Clasificación y descripción de sus distintas variedades

S. Serrano, C. Besses y D. Domínguez

ÍNDICE

Introducción
El sistema linfoide: órganos linfoides primarios y secundarios
Citología e histología de los órganos linfoides secundarios
Citología e histología de la zona B
Citología e histología de la zona T
Histofisiología de las células B. Del antígeno a la célula plasmática
Histofisiología de las células T
Organización arquitectual de los órganos linfoides secundarios
Ganglios linfáticos
Bazo
Tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT)
Tejido linfoide asociado a la piel (SALT)
Linfomas no hodgkinianos
Epidemiología
Clasificación de los linfomas no hodgkinianos
Procesos linfoproliferativos no hodgkinianos de fenotipo B
Procesos linfoproliferativos no hodgkinianos de fenotipo T
Entidades con frecuente presentación nodal
Entidades con frecuente presentación extranodal
Procesos con expresión predominantemente leucémica
Procesos linfoproliferativos asociados con inmunodeficiencia
Linfomas asociados con inmunodeficiencias congénitas
Linfomas no hodgkinianos asociados con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida
Enfermedad linfoproliferativa del trasplante
Bibliografía

INTRODUCCIÓN

Hasta un período muy reciente, y debido al desconocimiento de los mecanismos implicados en la respuesta inmune, el estudio de los linfomas se basaba en descripciones morfológicas con escaso sustrato biológico. En el momento actual, y debido a los avances en el campo de la inmunología, así como de la biología celular y molecular, los linfomas son contemplados de manera muy similar a los tumores con otra histogénesis: las células tumorales reproducen en buena medida la morfología y el comportamiento de sus contrapartidas normales. Así pues, es imprescindible el conocimiento de la arquitectura y función del sistema linfoide normal para comprender el comportamiento de estos tumores y para que los nuevos hallazgos en el campo de su biología sean clarificadores y no motivo de frustración intelectual.

EL SISTEMA LINFOIDE: ÓRGANOS LINFOIDES PRIMARIOS Y SECUNDARIOS

Las células más importantes del sistema linfoide son los linfocitos. Estas células se encuentran en grandes cantidades en la sangre, linfa (fluido incoloro que da nombre al sistema y cuyo nombre procede del griego «*linfa*», que significa «agua» en sentido poético) y órganos linfoides como el timo, los ganglios linfáticos y el bazo. El número de linfocitos contenidos en el cuerpo humano es, aproximadamente, de 2×10^{12}, por lo que su masa es, en conjunto, comparable a la del hígado u otros grandes órganos. El papel clave de los linfocitos en el sistema inmunitario fue demostrado a finales de la década de 1950[1], cuando, mediante una transfusión de linfocitos, se logró restaurar la inmunidad humoral y celular de ratones que habían sufrido una irradiación corporal total en dosis elevadas.

Durante la década de 1960[1], se descubrió que había dos grandes clases de linfocitos: los linfocitos T (T de timo), responsables de la inmunidad celular, y los linfocitos B (B de *bursa*, en referencia a que en las aves se originan en la *bursa de Fabricio*, órgano linfoide asociado al intestino), responsables de la inmunidad humoral. Los linfocitos T se caracterizan por presentar un receptor de membrana (receptor de las células T) de carácter

proteico, integrado por dos subunidades (alfa-beta, o gamma-delta), capaz de fijar y reconocer antígenos. De manera característica, los linfocitos T maduros expresan el antígeno CD3 en su superficie. Este antígeno es un complejo proteico asociado al receptor de células T[1-3]. Los linfocitos B se caracterizan por la capacidad de sintetizar inmunoglobulinas que pueden expresarse en la membrana celular o ser secretadas al medio extracelular. De manera característica, los linfocitos B maduros expresan en su superficie el antígeno CD20, que es una fosfoproteína de membrana de función poco conocida[1-3].

En la década siguiente se descubrió que había dos grandes subclases de células T[1]. Una subclase la constituyen las células T-cooperadoras que, como su nombre indica, «ayudan» (*T-helper cells*) a que las células B produzcan una respuesta humoral. La otra subclase está integrada por dos subpoblaciones: las células T que pueden modular la respuesta de las células B (células T-supresoras) y las células T capaces de destruir de manera directa células diana (células T-citotóxicas).

Los linfocitos se desarrollan a partir de la célula «madre» hematopoyética pluripotente que, como su nombre indica, da origen también al resto de elementos formes de la sangre (eritrocitos, leucocitos y plaquetas). De manera característica, estas células «madre» expresan en su superficie el antígeno CD34 (sialomucina, expresada también por las células endoteliales). Las células «madre» hematopoyéticas pluripotentes dan lugar a células precursoras de tipo linfoide y mieloide que, a su vez, darán lugar a las formas maduras de estas series. Las «células precursoras linfoides» B y T son blastos pequeños (linfoblastos) que pronto pierden la expresión de CD34 y se multiplican, para luego diferenciarse en linfocitos pequeños maduros (linfopoyesis primaria). Las células precursoras de la serie B se caracterizan por expresar los antígenos CD79a, CD43 y CD10, así como la enzima TdT (dioxinucleotidil-transferasa terminal)[2], pero en sus etapas iniciales no expresan el antígeno de superficie CD20. Estas células son sometidas a un proceso de reordenamiento de los genes que codifican las cadenas de inmunoglobulinas. Este proceso, en el que interviene la TdT, permite obtener, a partir de una sola célula «madre», numerosas poblaciones de células B capaces de reconocer una gran variedad de antígenos. Las células B que como consecuencia de este proceso reconocen antígenos propios son eliminadas por apoptosis. Las células precursoras de la serie T se caracterizan por expresar los antígenos CD7, CD43 y CD10 (de manera variable), así como la enzima TdT, pero en sus etapas iniciales no expresan los antígenos CD3, CD4 ni CD8. Estas células son sometidas a un proceso de reordenamiento de los genes que codifican las cadenas del receptor de células T. Este proceso, en el que interviene la TdT, permite obtener, a partir de una sola célula «madre», numerosas poblaciones de células T capaces de reconocer una gran variedad de antígenos. En el embrión, la formación de linfocitos B y T maduros a partir de células «madre» que se diferencian en células precursoras de tipo linfoide (linfopoyesis primaria) se inicia, probablemente, en el saco vitelino, y luego se traslada al hígado, al bazo, al timo y, finalmente, a la médula ósea, que es el único órgano que conservará esta capacidad durante la vida posnatal. Los linfocitos, al igual que en la vida posnatal, circulan por la sangre y linfa fetales. Durante este período, las células linfoides T primitivas (CD7+, CD3–, CD4–, CD8–)[2], todavía sin carácter cooperador, supresor o citotóxico, entran en contacto con el timo y sufren un complejo proceso que, por una parte, elimina por apoptosis las células con capacidad de reconocer antígenos propios y, por otra, determina que las células seleccionadas para sobrevivir maduren hasta formar las dos poblaciones presentes en el individuo adulto: linfocitos T CD3+ CD4+ y linfocitos T CD3+ CD8+. Las células T y B maduras, finalmente, se establecen en áreas concretas (zonas B, zonas T) de los órganos que constituirán el sistema linfoide en la vida posnatal (ganglios linfáticos, bazo, sistema linfoide asociado a mucosas y piel)[2].

Se denominan «órganos linfoides primarios» aquellos en los que los linfocitos maduros se originan a partir de células precursoras (linfoblastos). Los linfocitos maduros B se originan a partir de células precursoras B (linfoblastos B), que reordenan los genes que codifican las inmunoglobulinas, y los linfocitos T maduros se originan a partir de células precursoras T (linfoblastos T), que reordenan los genes que codifican el receptor de las células T. En estos órganos, las células precursoras B y T se originan de un antecesor común que se denomina célula «madre» hematopoyética pluripotente (*stem cell*). Los linfocitos maduros generados en los órganos linfoides primarios (linfopoyesis primaria) son «vírgenes», es decir, son células que todavía no han entrado en contacto con un antígeno. Ya se ha visto que en el embrión existen numerosos órganos que se comportan como órganos linfoides primarios, pero en el adulto, en condiciones normales, sólo la médula ósea desempeña este papel[2]. En el resto de órganos linfoides del adulto (ganglios linfáticos, bazo y sistema linfoide asociado a mucosas y piel) pueden generarse nuevas células linfoides, pero siempre a partir de linfocitos maduros (linfopoyesis secundaria) que, al ser estimulados por un antígeno, se transforman en blastos linfoides grandes (centroblastos e inmunoblastos) los cuales, a diferencia de las células precursoras (linfoblastos), no expresan TdT. Los centroblastos e inmunoblastos, primero se multiplican, y luego se diferencian, dando lugar a células linfoides maduras antígeno-específicas[2-4]. Los órganos linfoides en los que, por estimulación antigénica, se generan nuevas células linfoides a partir de linfocitos maduros reciben el nombre de «órganos linfoides secundarios». Durante la linfopoyesis secundaria, las células B pueden adquirir mutaciones en los genes que codifican las inmunoglobulinas (mutaciones somáticas); por el contrario, las células T no adquieren mutaciones en los genes que codifican su receptor. Este fenómeno permitirá seleccionar las poblaciones B con mutaciones que favorezcan el reconocimiento del antígeno. Así pues, en los órganos linfoides primarios la linfopoyesis (linfopoyesis primaria) es antígeno independiente, y está regulada por los mecanismos que controlan la hematopoyesis, mientras que en los órganos linfoides secundarios la linfopoyesis (linfopoyesis secundaria) es antígeno dependiente (fig. 25.1).

A finales de la década de 1980 se definió una tercera población de linfocitos: las células NK (*natural killer*)[1,2], que corresponden a los «linfocitos grandes granulares» de la sangre periférica. Estas células no expresan los antígenos propios de las células B o T como CD20 o CD3, pero comparten algunos antígenos con los linfocitos T citotóxicos, como CD56 y CD57. Las células NK tienen la capacidad innata de lisar diferentes variedades de células tumorales, células infectadas por virus y algunas células normales, sin sensibilización previa. Es posible que las células precursoras NK compartan un ancestro común con las células precursoras T, pero no se descarta que las células NK deriven de las células «madre» hematopoyéticas pluripotentes medulares a través de células precursoras independientes de las que dan origen a los linfocitos T y B. Se desconoce si las células NK se establecen en áreas concretas de los órganos linfoides secundarios.

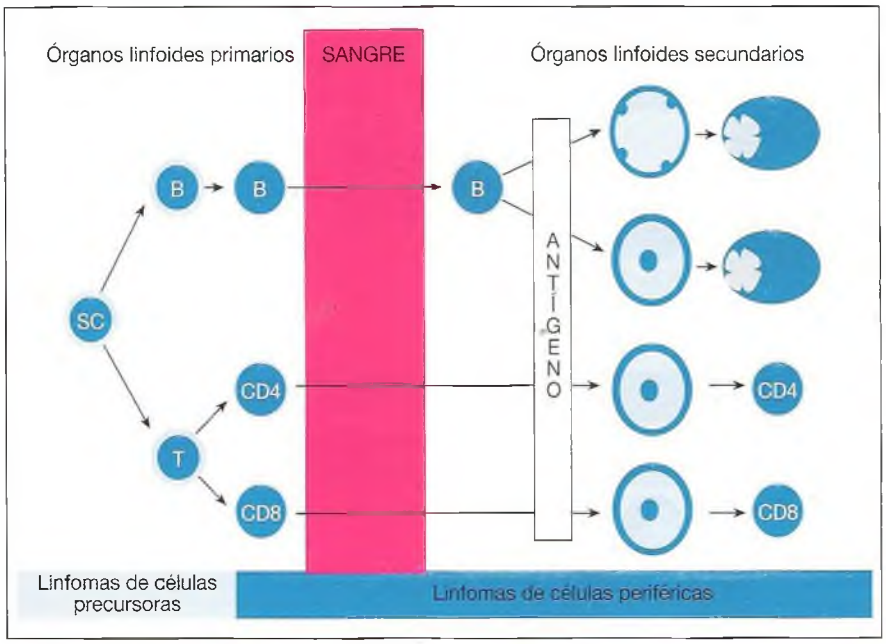


Figura 25.1. Representación esquemática de la linfopoyesis primaria y secundaria, así como de los linfomas relacionados. SC: *stem cell*.

Citología e histología de los órganos linfoides secundarios

Para eliminar del organismo la presencia de un antígeno extraño («anti» de anticuerpo y «geno» de generador) antes de que éste pueda causar un daño irreparable, el sistema inmunitario debería responder de forma altamente específica, rápida y potente; y de manera esencial, capacitarse para responder todavía de forma más rápida y eficaz ante cualquier nueva intrusión de este antígeno. Este último fenómeno se conoce como «memoria inmunológica»[2].

Así, el sistema linfoide se organiza para detectar y reconocer los antígenos extraños, seleccionar poblaciones linfoides que respondan de manera específica a los mismos, multiplicar estas poblaciones de manera tal que la respuesta sea de gran intensidad y, finalmente, producir poblaciones adicionales que, al guardar memoria del proceso, sean capaces de responder de manera más intensa y rápida ante un segundo encuentro. Todos estos procesos requieren poblaciones celulares con funciones específicas, pero también la constitución de compartimentos arquitecturales especialmente organizados para facilitar que el sistema funcione con la eficacia y la eficiencia de una producción industrial en cadena. Esta necesaria organización arquitectural se traduce en una histología característica que, con pequeños matices, se repite en todos los órganos linfoides secundarios. En primer lugar se analizará la histología de las zonas B de los órganos linfoides secundarios y, a continuación, la de las zonas T. No obstante, debe tenerse en cuenta que existen numerosas células T en las zonas B, y viceversa, puesto que la relación funcional entre ambas líneas celulares es muy estrecha[3]. La denominación «zona B» y «zona T» corresponde al inmunofenotipo de las células predominantes en dichas zonas (figs. 25.2 a 25.5a).

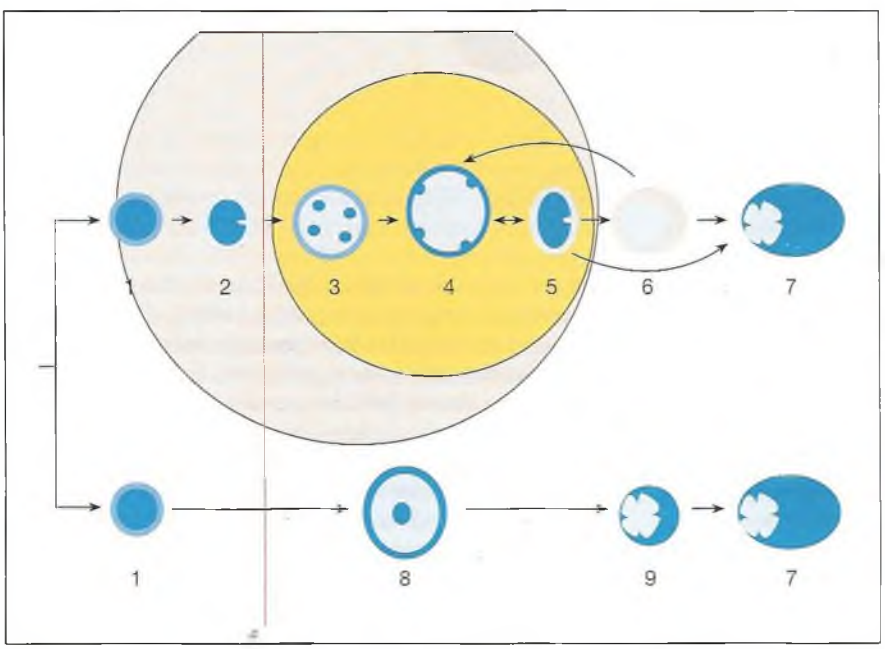


Figura 25.2. Representación esquemática de las distintas fases de la linfopoyesis secundaria. En la parte superior se ha representado la vía relacionada con el centro germinal y en la parte inferior la vía paracortical. *1*) linfocito pequeño B; *2*) célula del manto; *3*) célula pequeña no hendida; *4*) centroblasto; *5*) centrocito; *6*) célula de la zona marginal; *7*) célula plasmática; *8*) inmunoblasto B, y *9*) célula plasmocitoide. La línea roja representa la zona teórica del contacto con el antígeno.

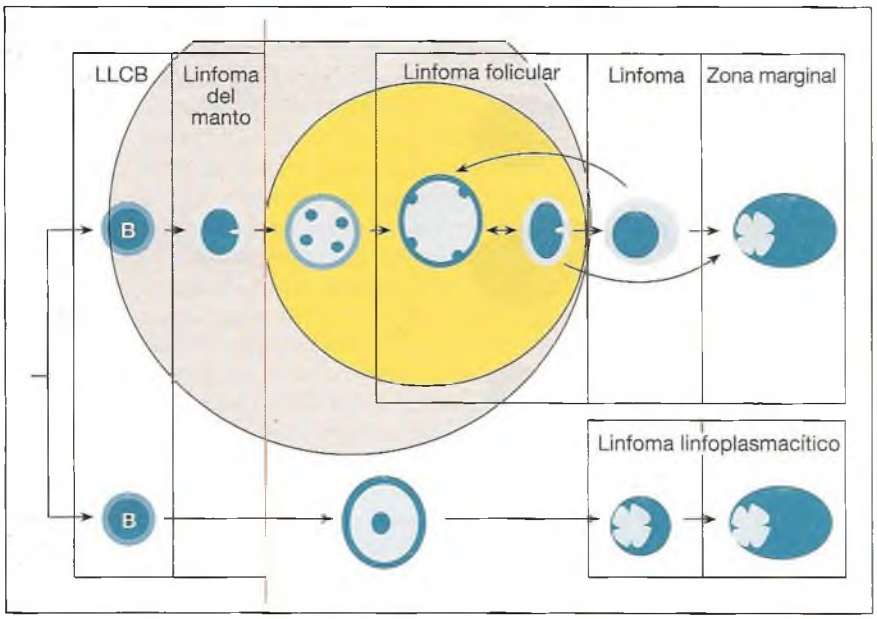


Figura 25.3. Representación esquemática de la relación entre los linfomas B periféricos de células pequeñas y los diversos estadios de la linfopoyesis secundaria. La línea roja representa la zona teórica del contacto con el antígeno.

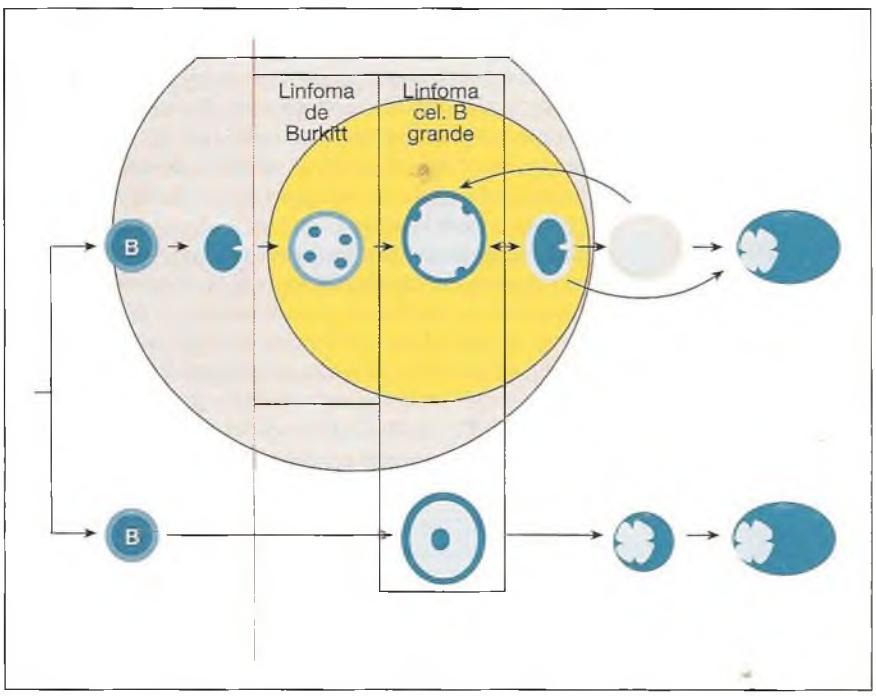
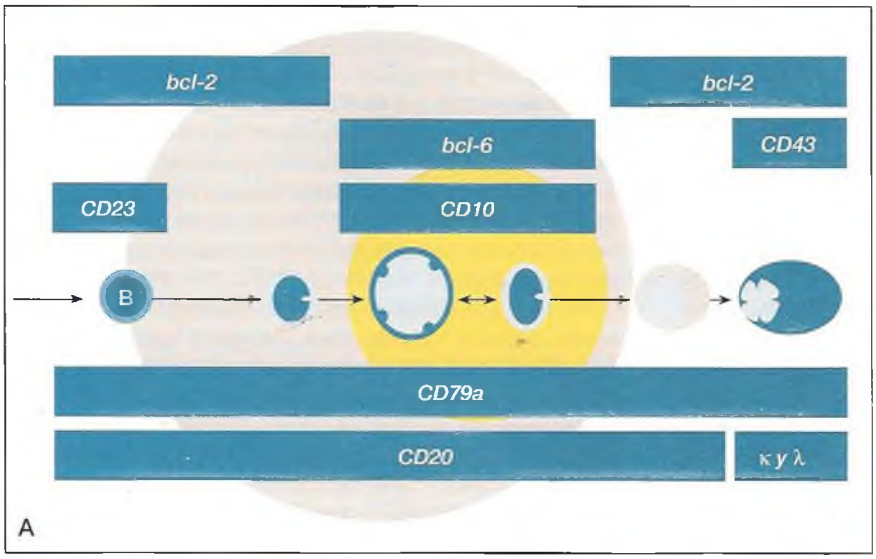


Figura 25.4. Representación esquemática de la relación entre el linfoma de Burkitt, los linfomas B periféricos de célula grande y los diversos estadios de la linfopoyesis secundaria. La línea roja representa la zona teórica del contacto con el antígeno.

Citología e histología de la zona B

Desde los 3 meses de la vida fetal, aparecen en los órganos linfoides secundarios acumulaciones esferoidales de linfocitos pequeños fijados a una malla tridimensional de células reticulares que, probablemente, es la que condiciona la forma de estas estructuras[2,6]. Estas acumulaciones esferoidales de linfocitos pequeños y células reticulares se denominan «folículos primarios» (del latín *folliculus*, pequeño saco). En la vida posnatal, si por acción de un antígeno estas células linfoides pequeñas son estimuladas a dividirse, se transforman en células linfoides grandes de carácter blástico, que se acumulan en el centro del folículo. La estructura resultante se denomina «folículo secundario». En este tipo de folículos, se distingue una zona periférica denominada «manto folicular», integrada en su mayor parte por los linfocitos pequeños que todavía no han sufrido la transformación blástica, y una zona central denominada «centro germinal», caracterizada por la presencia de blastos linfoides grandes. El manto folicular se tiñe de color oscuro debido a la cromatina densa de los linfocitos pequeños, mientras que el centro germinal presenta, en conjunto, un color más claro debido a la cromatina más laxa de los blastos linfoides. En una etapa posterior, dentro del centro germinal se distinguen, a su vez, dos zonas de tamaño variable: una zona «clara», integrada por células linfoides más pequeñas y dispersas (centrocitos), y una zona más «oscura», integrada por células más grandes y apiñadas



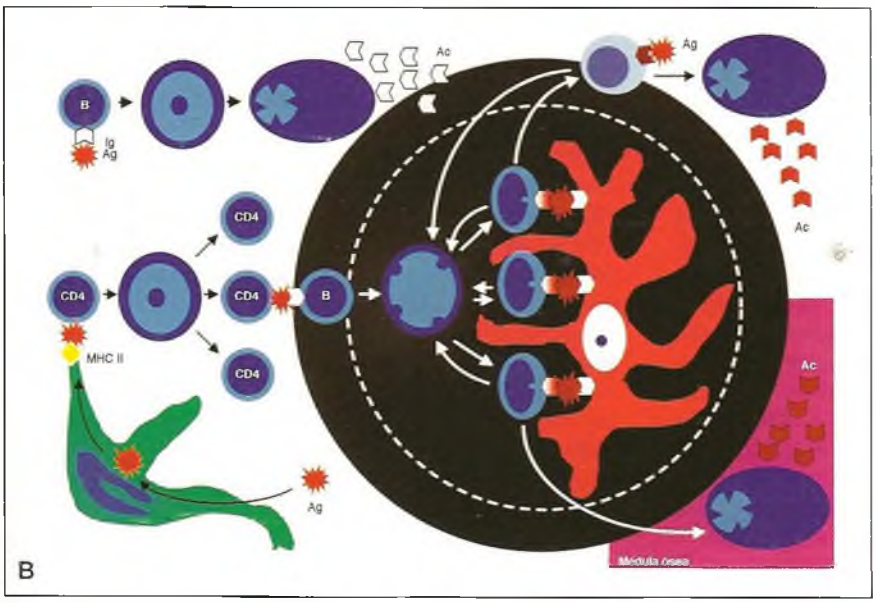


Figura 25.5. *A.* Expresión antigénica en los distintos estadios celulares de la vía folicular de la linfopoyesis secundaria. *B.* Esquema de la respuesta inmune primaria y secundaria. *Arriba a la izquierda* se halla representada la respuesta inmune primaria precoz que se desarrolla en el paracórtex. *Abajo* se halla representada la fase tardía de la respuesta primaria que se inicia en el paracórtex con la presentación del antígeno a linfocitos T cooperadores y finaliza con la emigración de los centrocitos a la médula ósea para transformarse en células plasmáticas. *Arriba a la derecha* se representa la respuesta secundaria. En dicha respuesta una célula marginal al entrar en contacto con el antígeno puede reentrar en el centro germinal o eventualmente transformarse de manera directa en célula plasmática.

(centroblastos). En algunos órganos linfoides, como en el bazo, los ganglios mesentéricos y las placas de Peyer, puede existir por fuera del manto una segunda capa integrada por células linfoides de tamaño intermedio y citoplasma claro, denominada «zona marginal». Esta zona representa probablemente una acumulación de células de memoria. Se desconoce la razón de que la zona marginal no se desarrolle en todos los órganos linfoides secundarios (v. más adelante).

El folículo linfoide constituye la unidad funcional fundamental de la zona B. Su aspecto morfológico es producto de una compleja organización funcional y arquitectural que son esenciales para su función fundamental, que es la de producir células inmunológicamente competentes y de la que se tratará a continuación. Previamente, se hará una breve descripción de cada uno de los tipos celulares que integran la zona B y cuyo conocimiento permitirá una mayor comprensión de las explicaciones posteriores. Junto con la descripción morfológica, se mencionarán algunos de los antígenos (detectables en material fijado en formol e incluido en parafina) que, al caracterizar a estas células, pueden ser más útiles en el diagnóstico de sus contrapartidas tumorales. Se utilizará el término «célula pequeña» para referirse a aquellas que poseen un diámetro semejante al de los linfocitos circulantes normales; el de «célula intermedia», para las que posean un diámetro entre 1,5 y 2 veces superior al de las células pequeñas, y el de «células grandes» para las que posean un diámetro tres veces superior al de las células pequeñas. Los diversos antígenos expresados por estas células, y que permiten su caracterización, son denominados CD (*cluster designation*) (v. Capítulos 1 y 2).

El *linfocito pequeño B* es una célula redonda, pequeña, con escaso citoplasma, núcleo también redondo que ocupa la mayor parte de la célula, cromatina densa dispuesta en grumos gruesos y con nucléolo no aparente. Constituye la población predominante de los folículos primarios y del manto folicular de los folículos secundarios. Estas células lle-

gan a los folículos procedentes de la médula ósea, donde se han originado a partir de los linfocitos pre-B medulares (células precursoras)[1,2,6]. Por consiguiente, muchas de estas células son linfocitos «vírgenes», es decir, células que todavía no han sido activadas por un antígeno. En su superficie se detecta la expresión de los antígenos CD20 («específico» de la línea B), CD79a y CD23 (se adquiere, al final de la linfopoyesis primaria, cuando los linfocitos B maduros vírgenes abandonan la médula ósea) así como de IgM y de IgD. Los linfocitos pequeños B de los mantos foliculares no expresan en su citoplasma cadenas ligeras de inmunoglobulinas, pero sí presentan expresión de la proteína bcl-2 (proteína relacionada con los mecanismos de inhibición de la apoptosis). En el núcleo de estas células no se observa expresión del antígeno Ki67 (proteína nuclear relacionada con la entrada en el ciclo celular) ni de la proteína bcl-6, que parece ser necesaria para la formación de los centros germinales.

El *centroblasto* (célula grande no hendida) es una célula redonda, grande y de citoplasma escaso. El núcleo es redondo (hay escasas formas de núcleo multilobulado), ocupa la mayor parte de la célula, tiene un aspecto «vacío» (pues sólo es aparente la cromatina adosada a la cubierta nuclear) y posee varios nucléolos también adosados a esta cubierta. Constituye, junto con el centrocito, la población predominante en los centros germinales de los folículos secundarios, y de manera fundamental se sitúa en la zona «oscura» de los mismos. Los centroblastos se originan a partir de los linfocitos pequeños del manto folicular[1,2,6] y, por consiguiente, en la fase inicial de formación del centro germinal se encuentran formas celulares de morfología y tamaño intermedios (células pequeñas no hendidas). Este proceso de transformación tiene lugar porque, en el curso de la respuesta a un antígeno, los linfocitos pequeños B «vírgenes» entran en el centro germinal para ser activados por las células T y proliferar. El centroblasto es el elemento proliferativo de la estirpe B en el centro germinal, y tiene por función multiplicar el número de células que, durante la respuesta primaria tardía y la respuesta secundaria, van a responder a un antígeno (v. más adelante)[1,2,7,8]. Los centroblastos expresan en su superficie los antígenos CD20, CD79a (con menor intensidad que los linfocitos pequeños) y CD10. En su núcleo, expresan la proteína bcl-6. En su membrana no se detecta expresión de los antígenos CD23 ni de IgD. En el citoplasma de los centroblastos no se detecta expresión de cadenas ligeras de inmunoglobulinas ni de la proteína bcl-2. En un elevado porcentaje de estas células se detecta expresión del antígeno Ki67 en el núcleo.

El *centrocito* (célula pequeña hendida) es una célula ovalada, de tamaño intermedio y citoplasma escaso. El núcleo es ovalado, ocupa la mayor parte de la célula, tiene contornos irregulares, en ocasiones su aspecto es escotado debido a una invaginación profunda («hendidura») de la cubierta nuclear, posee una cromatina de textura fina y homogénea, y carece de nucléolos aparentes. Constituye, junto con el centroblasto, la población predominante en los centros germinales de los folículos secundarios y, de manera fundamental, se sitúa en la zona «clara» de los mismos. Estas células se originan a partir de los centroblastos y, por consiguiente, es posible observar en el centro germinal normal formas celulares de morfología y tamaño intermedios (centrocitos grandes o células grandes hendidas). Los centrocitos constituyen el paso intermedio en la diferenciación de los blastos B del centro germinal hacia elementos productores de anticuerpos de alta afinidad (células plasmáticas) y células de memoria[1,2,7,8]. Expresan en su superficie los antígenos CD20, CD79a (con menor intensidad que los linfocitos pequeños) y CD10, y en su núcleo expresan la proteína bcl-6. En los centrocitos no se detecta expresión del antígeno de superficie CD23 ni de IgD, y no expresan en su citoplasma cadenas ligeras de inmunoglobulinas ni la proteína bcl-2. Estas células pueden expresar en su núcleo la proteína Ki67, pero en menor porcentaje que los centroblastos.

La *célula plasmática* es una célula ovalada, de tamaño intermedio o grande, con citoplasma amplio y basófilo, con una zona paranuclear más clara que corresponde, desde un punto de vista ultraestructural, al aparato de Golgi. El núcleo es redondeado y excéntrico, de tamaño parecido al de un linfocito pequeño, por lo que ocupa una pequeña parte del volumen celular. Este núcleo tiene un aspecto característico «en rueda de carro», puesto que la cromatina adosada a la cubierta nuclear se dispone en grumos radiales que convergen hacia un nucléolo central muy poco aparente. Las células plasmáticas constituyen una población muy minoritaria del centro germinal, puesto que los precursores de las mismas tienden a migrar fuera del mismo para diferenciarse en la médula ósea[6]. Estas células pueden originarse a partir de diversos precursores de tipo B, entre ellos el centrocito y la célula de la zona marginal. La célula plasmocitoide es probable que corresponda a una de las formas morfológicas intermedias de este proceso de transición. Esta célula tiene una mayor relación núcleo/citoplasma, y un nucléolo más evidente que el de la célula plasmática. Las células plasmáticas y plasmocitoides constituyen el elemento final en el proceso de diferenciación de los blastos B del centro germinal, y se especializan en la producción de anticuerpos de alta afinidad (existen células plasmáticas de otros orígenes que pueden producir anticuerpos no tan selectivos)[1,2,6-8]. Las células plasmáticas y plasmocitoides expresan en su citoplasma el antígeno CD79a, cadenas ligeras de inmunoglobulinas (en condiciones normales, más de dos tercios de las mismas expresan cadenas ligeras kappa), cadenas pesadas de inmunoglobulinas (IgD, IgM, IgA, IgG o IgE) y la proteína bcl-2. En su citoplasma se puede detectar también la expresión del antígeno CD30, y en su membrana la expresión de los antígenos CD138, CD43 y del EMA (antígeno epitelial de membrana). En su membrana no se detecta expresión de CD20, CD23, CD10 ni de inmunoglobulinas. Tampoco presentan expresión de la proteína bcl-6 ni del antígeno Ki67 en el núcleo.

La *célula de la zona marginal* es una célula redondeada u ovalada, de tamaño intermedio, con un citoplasma moderadamente amplio de aspecto claro o muy ligeramente eosinófilo. El núcleo es redondeado y central o ligeramente excéntrico, de tamaño algo superior al de un linfocito pequeño, pero de cromatina más fina, ocupa alrededor del 30% del volumen total de la célula, y su nucléolo no es conspicuo. Estas células constituyen la población mayoritaria de la zona marginal de los folículos linfoides del bazo, placas de Peyer y ganglios mesentéricos. La relación de las células de la zona marginal con los otros tipos celulares de la línea B no está todavía bien conocida. La capacidad de la célula marginal para convertirse en célula plasmática está bien establecida[9]. Sin embargo, está en discusión si la célula marginal es una célula de memoria derivada del centrocito o una célula de memoria originada en linfocitos pequeños del manto folicular o del folículo primario y generada en la respuesta inmune

a estímulos antigénicos pobremente inmunogénicos. En el primer caso, la células de la zona marginal, al entrar en contacto con el antígeno, volverían a reentrar en el centro germinal para iniciar el proceso de expansión y diferenciación que las convertiría en células plasmáticas. En el segundo, este proceso se llevaría a cabo directamente en la periferia del folículo. También es posible que la célula de la «zona marginal» sea, simplemente, un aspecto morfológico común adoptado, en determinadas circunstancias, por células linfoides funcionalmente muy diferentes. En este sentido, las células de la zona marginal de los ganglios linfáticos y del sistema MALT, parecen constituir un grupo con características funcionales diferentes a las de las células de la zona marginal esplénica. En la superficie de las células marginales se detecta expresión de los antígenos CD20 y CD79a, así como de IgM, pero no se detecta expresión de CD23, CD10 ni de IgD (excepto en el bazo). En su citoplasma se detecta expresión de la proteína bcl-2 y del antígeno CD79a (débil), pero no se detecta expresión de cadenas ligeras de inmunoglobulinas. En células situadas en esta zona se observa de manera muy ocasional expresión del antígeno Ki67 en el núcleo, pero no expresan la proteína bcl-6.

Las *células B monocitoides* no están en contacto directo con el folículo, pero es posible que estén relacionadas funcionalmente con el mismo, por lo que se describirán en este apartado. Son células ovaladas o redondeadas, de tamaño intermedio, con un citoplasma moderadamente amplio y claro o muy ligeramente eosinófilo. Tienen un núcleo de contornos irregulares, a veces escotado, de tamaño algo superior al de un linfocito pequeño, pero de cromatina más fina, que ocupa alrededor del 30% del volumen total de la célula, y su nucléolo no es aparente. Es decir, son células de morfología y tamaño muy similares a los de las células de la zona marginal, aunque de núcleo más irregular. Estas células se observan en los senos de los ganglios linfáticos (v. más adelante), especialmente en relación con procesos reactivos frente a determinados antígenos (toxoplasma, VIH-1). Puesto que estos senos pueden ser adyacentes a los folículos, en ocasiones puede dar la impresión de que estas células tengan una distribución perifolicular. Las células B monocitoides expresan un patrón antigénico similar al descrito para las células de la zona marginal, pero, a diferencia de éstas, no suelen expresar la proteína bcl-2. El origen y papel funcional de estas células son desconocidos. Se discute si proceden de la activación del centro germinal o, dada su similitud morfológica e inmunofenotípica, proceden de las células de la zona marginal[10,11].

La *célula reticular dendrítica* (o célula dendrítica folicular) es una célula situada en el centro germinal, que no es aparente en el estudio histológico convencional, puesto que su citoplasma es inconspicuo y su núcleo (pueden ser multinucleadas, con núcleos amoldados: *kissing cells*) se confunde con facilidad con el de los centroblastos, pues suele ser redondeado y de aspecto vacío, con un nucléolo poco prominente. Son células con numerosas prolongaciones citoplasmáticas, que se conectan entre sí mediante desmosomas, para constituir así una malla tridimensional que se halla en íntimo contacto con las células centrofoliculares. El origen de estas células no está bien establecido. Su función principal no es la fagocitosis (en estas células no se detecta la expresión del antígeno lisosomal CD68) sino atrapar en su superficie complejos antígeno-anticuerpo que, sin embargo, no pueden procesar[7,8,12]. Estos complejos quedan así expuestos durante largo tiempo (células «presentadoras de antígenos»), y de este modo, pueden ser reconocidos por centrocitos ya con especificidad para el antígeno englobado en el complejo. La exposición prolongada al antígeno permite a los centrocitos aumentar todavía más su especificidad (v. más adelante). Las células reticulares dendríticas expresan en su superficie los antígenos CD21 (receptor para el complemento) y CD23 (receptor para el segmento Fc de las inmunoglobulinas). Estos dos últimos antígenos permiten reconocer dos subpoblaciones de células dendríticas. Las más centrales son $CD23^+$ y $CD21^+$, mientras que las más periféricas, situadas ya en el manto folicular, son $CD23^-$ y $CD21^+$. En las células dendríticas es posible detectar la presencia de cadenas ligeras de inmunoglobulinas pertenecientes a inmunocomplejos adheridos a su superficie. En estas células no se detecta expresión de los antígenos de superficie CD10 ni CD43 ni de las proteínas bcl-2 (citoplasma) ni bcl-6 (núcleo). Es difícil evaluar el porcentaje de expresión de Ki67 en el núcleo de estas células, pero probablemente es bajo.

El *macrófago del centro germinal* (macrófago con «cuerpos tangibles») es una célula grande y de forma irregular. Su citoplasma es amplio, claro y contiene abundantes fragmentos de material nuclear fagocitado, correspondiente a cuerpos apoptóticos («cuerpos tingibles»). Su núcleo es ovalado o arriñonado, y el nucléolo es inconspicuo. El aspecto claro de estas células y su dispersión entre los centroblastos, más oscuros, determina que la zona oscura del centro germinal adquiera un aspecto que se ha llamado «en cielo estrellado». También se pueden observar, aunque en menor número, en la zona clara. Estas células se originan a partir de células del sistema mononuclear-fagocítico, y su función principal es la fagocitosis de las células que mueren por apoptosis en el centro germinal. Estas células no expresan los marcadores de superficie de las células linfoides que se han revisado, con excepción del antígeno CD43 (también expresan el antígeno leucocitario común: CD45RB), pero sí expresan en su citoplasma grandes cantidades del antígeno CD68 con un patrón granular.

Citología e histología de la zona T

Esta zona no tiene, aparentemente, una organización arquitectural tan elaborada como la de la zona B. En ella parecen disponerse entremezclados células linfoides pequeñas y grandes de ambas líneas (las células T constituyen la mayor parte de la población), células reticulares y vasos de morfología muy característica (vénulas de endotelio alto). En esta zona, tanto los linfocitos B como los T vírgenes pueden entrar en contacto con un antígeno y transformarse en blastos grandes (inmunoblastos) que son capaces de multiplicarse y de diferenciarse después en células antígeno-específicas. Sin embargo, mientras que las células B resultantes del proceso de activación antigénica son morfológicamente muy diferentes (células plasmáticas) de las células B vírgenes (linfocitos pequeños), las células T resultantes del proceso de activación antigénica son linfocitos pequeños morfológicamente indistinguibles de los linfocitos T «vírgenes».

Existen datos experimentales que sugieren que en la zona T se desarrolla la respuesta inicial precoz al antígeno, mientras que en la zona B se produce la respuesta inicial tardía y las respuestas a nuevas exposiciones al mismo antígeno (respuestas secundarias)[1,2,5]. En la zona T, y a través de las paredes de las vénulas del endotelio alto, se produce también la entrada de los linfocitos B y T circulantes al tejido linfoide.

El *linfocito pequeño T* es una célula pequeña que, en un corte histológico, es de morfología indistinguible de la del linfocito pequeño B. Los linfocitos pequeños T constituyen la población predominante en la zona T, pero son también relativamente abundantes en los folículos linfoides, donde se sitúan de manera preferente en la interfase entre los mantos foliculares y los centros germinales, así como en la zona clara de estos últimos. En su superficie expresan los antígenos CD3 («específico» de la línea T), CD7, CD5, CD43 y, dependiendo de su función, expresan además los antígenos CD4 (linfocitos T-cooperadores, que son los más abundantes), o CD8 (linfocitos T-supresores y T-citotóxicos). Un linfocito T normal no coexpresa estos dos últimos antígenos[1,2,13]. Dentro de la población $CD4^+$ existe un subgrupo que expresa el antígeno CD57, que se sitúa de manera dispersa en los centros germinales, y un subgrupo que expresa el ligando para el antígeno CD40 (CD40L), que se dispone formando un anillo en el límite entre el centro germinal y el manto folicular. Dentro de la población $CD8^+$ es posible reconocer las células con actividad citotóxica, puesto que expresan también el antígeno CD56; algunas de estas células expresan, además, el antígeno CD57. Los antígenos CD56 y CD57 son asimismo expresados por las células *natural killer* (NK).

Un porcentaje pequeño de los linfocitos pequeños T expresan el antígeno CD45RA (expresado también por células B) en su superficie, hecho que se ha relacionado con un carácter «virgen». La mayoría de los linfocitos pequeños T expresan en su superficie el antígeno CD45RO, hecho que se ha relacionado con una función de memoria, si bien estas células parecen tener una vida media corta[3].

El *inmunoblasto T* es una célula grande, de forma redondeada u oval. Su núcleo, también redondeado, ocupa aproximadamente dos tercios del área celular, es de aspecto claro (sólo es aparente la cromatina asociada a la cubierta nuclear), de posición central, y está dotado de un nucléolo que, de manera característica, es único, central y muy prominente. Su citoplasma es relativamente abundante y basófilo. En su superficie se detecta la expresión de los mismos antígenos que se han mencionado al tratar de los linfocitos pequeños T. El inmunoblasto T procede de la activación de los linfocitos T pequeños presentes en la zona T, pero no se conoce con exactitud su espectro de diferenciación posterior. Desde el punto de vista morfológico, ya se ha mencionado que los linfocitos T antígeno-específicos, que derivarían del inmunoblasto T, serían indistinguibles de los linfocitos T «vírgenes».

El *inmunoblasto B* es una célula grande, con un aspecto morfológico indistinguible del descrito para el inmunoblasto T. Al igual que en las células plasmáticas, contiene inmunoglobulinas en su citoplasma, pero a diferencia de éstas, expresan CD20 en su membrana, pero no CD138, CD43 o EMA. Cabe destacar que los inmunoblastos B, a diferencia de los centroblastos (las otras células blásticas de la línea B), no expresan el antígeno CD10 ni la proteína bcl-6. Se considera que los inmunoblastos B proceden de linfocitos B pequeños «vírgenes» que, en la zona T, serían activados por un antígeno. En una etapa ulterior, el inmunoblasto se diferenciaría hacia células plasmáticas, residentes en el ganglio linfático. Estas últimas serían capaces de generar los anticuerpos de baja afinidad, típicos de la fase inicial de la respuesta inmune primaria precoz.

La *célula reticular interdigitante* es una célula de núcleo oval o elongado, de aspecto vacío, el cual posee una muesca a lo largo de su eje mayor que le confiere un aspecto en «grano de café» muy característico. El citoplasma de estas células es eosinófilo, de forma estrellada, y emite largas prolongaciones interdigitantes que se hallan en íntimo contacto con los linfocitos pequeños T. Al igual que ocurre con las células dendríticas foliculares, estas prolongaciones sólo son visibles mediante técnicas inmunohistoquímicas o mediante el estudio ultraestructural. El origen de estas células es desconocido, aunque se las ha relacionado con el sistema mononuclear fagocítico. Su función es la de captar, interiorizar, procesar y, finalmente, presentar los antígenos para que éstos puedan ser reconocidos por los linfocitos T presentes en la zona. Así pues, la diferencia fundamental de estas células con respecto de las dendríticas foliculares radica en que estas últimas «presentan» los antígenos sin procesarlos previamente. Por consiguiente, las células reticulares interdigitantes ejercen una función similar a las células de Langerhans de la epidermis. Se ha sugerido que las células de Langerhans pueden penetrar en los vasos y senos linfáticos (*veiled cells*) y, después de perder su marcador ultraestructural (los llamados «cuerpos de Birbeck») e inmunohistoquímico (CD1a), instalarse en las zonas T de los ganglios linfáticos en forma de células reticulares interdigitantes. Las células reticulares interdigitantes expresan en su citoplasma y en el núcleo la proteína S100, hecho que las diferencia del resto de células de aspecto dendrítico halladas en los órganos linfoides. A diferencia de las células dendríticas foliculares, carecen de expresión de los antígenos CD21 o CD23. Sin embargo, al igual que estas últimas, las células interdigitantes no expresan el antígeno lisosomal CD68.

Las *vénulas de endotelio alto* (vénulas epitelioides, vénulas poscapilares) reciben este nombre debido a que se hallan constituidas por células endoteliales de forma cuboidea o cilíndrica, por lo que, en una sección transversal, estas vénulas tienen un aspecto similar al de una glándula. Su función es la de permitir el paso de los linfocitos B y T desde la circulación sanguínea al tejido linfoide (fenómeno conocido como «recirculación»), para lo que sus células endoteliales poseen receptores específicos. Estas células, al igual que las células endoteliales convencionales, expresan en su citoplasma el factor VIII de la coagulación, y en su superficie el antígeno CD34.

Histofisiología de las células B. Del antígeno a la célula plasmática

Los datos de los que se dispone acerca de la respuesta inmunológica a diferentes antígenos sugieren que ésta es tan flexible y compleja que cualquier esquema puede resultar simplista (fig. 25.5b).

El papel fundamental del sistema linfoide es reaccionar frente a un antígeno, generando, a partir de linfocitos B «vírgenes», células plasmáticas productoras de anticuerpos más o menos específicos. Durante la linfopoyesis primaria, y mediante el reordenamiento de los genes que codifican los segmentos variables de las cadenas de inmunoglobulinas, se obtienen numerosas clonas de células B vírgenes capaces de reconocer a una gran variedad de antígenos. Para que durante la linfopoyesis secundaria estas células B vírgenes respondan a la mayor parte de los antígenos es esencial la colaboración de las células T. Estos antígenos son conocidos como «T-dependientes»[1,2]. Para otros antígenos, la colaboración de

las células T no es esencial, por lo que reciben el nombre de antígenos «T-independientes»[1,2]. La respuesta B a los antígenos «T-dependientes» tiene lugar de manera predominante en los folículos linfoides, y da lugar a células plasmáticas productoras de anticuerpos de alta afinidad por el antígeno, mientras que la respuesta B a los antígenos «T-independientes» tiene lugar de manera predominante en las llamadas «zonas T» (en los ganglios linfáticos, en la zona paracortical), y da lugar a células plasmáticas que producen anticuerpos de baja afinidad. En consecuencia, el sustrato histológico de ambas respuestas es diferente, como también lo son los diversos tipos celulares que participan en ellas (fig. 25.2).

Durante la linfopoyesis secundaria de las células B, la adquisición de grados crecientes de afinidad en los anticuerpos producidos por las mismas se basa en la selección de poblaciones linfoides de alta especificidad para el antígeno. Esta selección se lleva a cabo a partir de una multitud de poblaciones de especificidad variable generadas mediante mutaciones somáticas en los genes que codifican los segmentos variables de las cadenas de inmunoglobulinas de las células B vírgenes. Este proceso se halla directamente modulado por los linfocitos T colaboradores[1,2,14]. Por esta razón, los anticuerpos generados frente a antígenos «T-dependientes» poseen mayor afinidad. En el anticuerpo codificado por estos genes, estas mutaciones se reflejan en modificaciones en las zonas de reconocimiento del antígeno, las cuales, de manera progresiva, se adaptan con mayor precisión a los epítopos antigénicos[14].

Existen datos experimentales que sugieren que la respuesta folicular a los antígenos T-dependientes podría estar precedida por una respuesta B en la zona paracortical[5]. Un esquema provisional de la respuesta inmunológica a un antígeno T-dependiente podría ser el siguiente[1,2,5-8]: linfocitos B pequeños vírgenes situados en la zona T serían activados directamente por el antígeno, se transformarían en inmunoblastos B, que darían lugar a células plasmocitoides y a células plasmáticas. Estas últimas células se acumularían en la zona medular y darían lugar a anticuerpos de baja afinidad por el antígeno. Esta respuesta, que correspondería a lo que los inmunólogos denominan «respuesta primaria precoz», se iniciaría al segundo día de la llegada del antígeno y finalizaría a los 4-5 días. De manera simultánea, el antígeno es reconocido como extraño por las células reticulares interdigitantes, fragmentado (procesado) y sus epítopos expuestos (presentados) en la superficie celular (mediante los antígenos de histocompatibilidad de clase II [MHC II]) al receptor específico de las células T (TCR)[1,2]. El reconocimiento del antígeno por parte del TCR es facilitado por moléculas de superficie como CD4. Esta sucesión de eventos dura aproximadamente entre 1 y 2 días. Los linfocitos T activados en el curso de este proceso se transformarían en inmunoblastos T, que al multiplicarse y después diferenciarse darían lugar a diferentes subpoblaciones de linfocitos T pequeños cooperadores y antígeno-específicos, algunos de los cuales se desplazarían al folículo linfoide. En el folículo linfoide les sería presentado el antígeno por células linfoides B «vírgenes». Estos linfocitos B, en una primera fase, habrían captado de manera poco específica al antígeno a través de las moléculas de inmunoglobulinas IgD o IgM que expresan en su superficie. Los linfocitos T cooperadores antígeno-específicos, al entrar en contacto con el antígeno presentado por los linfocitos B foliculares lo activarían, iniciando el proceso que daría lugar a la aparición del centro germinal. A los 3 días de la llegada del antígeno, los linfocitos pequeños se transformarían primero en células pequeñas no hendidas y, luego, en centroblastos, los cuales no expresan inmunoglobulinas de superficie, y se multiplican rápidamente (ciclos celulares de 6-7 horas), adquiriendo mutaciones somáticas en los genes que codifican los segmentos variables de las cadenas de inmunoglobulinas. Es posible que la activación de bcl-6 a través de la inhibición de la actividad de p53 tenga un papel facilitador en la acumulación de estas mutaciones. Los centroblastos darían lugar a los centrocitos, que expresan inmunoglobulinas de superficie de tipo IgM/IgG con las que interaccionarán con los antígenos. El antígeno, probablemente en forma de complejos «antígeno-anticuerpo», es presentado a los centrocitos por las células reticulares dendríticas del centro germinal. Estas células poseen receptores para el complemento (CD21) y para el segmento Fc de las inmunoglobulinas (CD23), y por tanto, pueden fijar estos complejos. Es posible que el anticuerpo generado durante la fase precoz de la respuesta primaria intervenga en el proceso al formar complejos con el antígeno. La exposición de los centrocitos a los antígenos permitiría, por una parte, eliminar las células con mutaciones que hayan disminuido la afinidad de sus inmunoglobulinas para el antígeno (selección negativa), y por otra, favorecer la supervivencia y expansión de las células con mutaciones que hayan aumentado esta afinidad (selección positiva). La selección negativa de los centrocitos, con inmunoglobulinas de superficie menos afines al antígeno se realizaría debido a que las células que reconocen en menor medida al antígeno serían desplazadas de la superficie de las células dendríticas por los centrocitos con inmunoglobulinas con más afinidad por el mismo[7,8]. Al perder el contacto con el antígeno y la célula dendrítica, los centrocitos desplazados entrarían en apoptosis, y serían fagocitados por los macrófagos del centro germinal. Es posible que en este mecanismo intervenga la expresión de CD95 (Fas) por parte de las células no seleccionadas. Cuando este antígeno es reconocido por células T $CD8^+$ citotóxicas que expresan el ligando para el mismo, la célula entra en apoptosis. En este sentido, hay que destacar que cuando los linfocitos B vírgenes se activan y se transforman en células del centro germinal (centroblastos y centrocitos) dejan de expresar la proteína blc-2 relacionada con el proceso de inhibición de la apoptosis. En el proceso de selección positiva, los centrocitos con inmunoglobulinas de superficie más afines permanecerían en contacto con las células dendríticas al hallarse fijados al antígeno situado en la superficie de las mismas. Este hecho les permitiría eludir los mecanismos de apoptosis, quizás a través de la expresión del antígeno CD40, que sería reconocido por células T $CD4^+$ del centro germinal, que expresan un ligando específico para el mismo[12]. Las células seleccionadas por este u otros mecanismos volverían a entrar en el ciclo celular, lo que les permitiría sufrir nuevas mutaciones en los genes de sus inmunoglobulinas, que podrían determinar un nuevo aumento de su afinidad, y su expansión clonal. Los centrocitos resultantes de esta expansión serían de nuevo seleccionados, y así los que de nuevo presentasen inmunoglobulinas menos afines por el antígeno serían eliminados por apoptosis, y los supervivientes entrarían de nuevo en el ciclo celular. Esta sucesión de ciclos de expansión clonal y de selección negativa y positiva de los centrocitos podría repetirse varias veces. Desde el punto de vista genómico, esto se traduciría, en las células

supervivientes, en un incremento creciente del número de mutaciones somáticas (hipermutaciones somáticas) en las zonas que codifican las regiones variables de las cadenas de inmunoglobulinas. Al final de cada uno de estos ciclos de selección y expansión, los centrocitos resultantes expresarían inmunoglobulinas de afinidad creciente. Existen datos que sugieren que en un centro germinal, al final del proceso, probablemente no existan más de 3 o 4 clones distintos de centrocitos, todos ellos altamente afines por el antígeno que inició la respuesta[7,8]. Así pues, el centro germinal es una estructura que permite que los mecanismos de «selección natural» actúen a gran velocidad para seleccionar la supervivencia y expansión de los elementos más «capaces». En el curso de este proceso de selección, más del 90% de los centrocitos son eliminados por apopotosis.

Algunos de los centrocitos resultantes de cada ciclo de este proceso pueden transformarse en células productoras de anticuerpos (células plasmocitoides) en el mismo centro germinal, pero la mayor parte de los mismos emigrarán a la médula ósea para transformarse allí en oleadas sucesivas de células plasmáticas productoras de anticuerpos de afinidad creciente (este proceso parece estar parcialmente regulado por IL-10). Otros centrocitos se transformarán en células de memoria capaces de sobrevivir largo tiempo. El proceso de formación del centro germinal y la aparición de la primera oleada de células plasmáticas de alta afinidad dura entre 3 y 4 semanas, y es lo que los inmunólogos denominan «respuesta primaria tardía»[1,2,4].

Histofisiología de las células T

El grado de conocimiento de los procesos fisiológicos y madurativos que tienen lugar en la población linfoide T está lejos de ser equiparable al que se dispone de los linfocitos B. Quizás, en parte, este hecho es debido a que la estructuración del tejido linfoide T no parece tan elaborada como la del tejido B, por lo que las diferentes fases madurativas difícilmente pueden ser correlacionadas con aspectos morfológicos concretos.

La función del tejido linfoide T es la de «transmitir» los sucesos inmunológicos al tejido linfoide B y, asimismo, velar por la eficacia y eficiencia del proceso desencadenado por la activación de la respuesta B. Posiblemente, para desempeñar esta función de forma adecuada, el tejido linfoide T ha tenido que dispersarse en todo el organismo, y estructurar zonas T alrededor de áreas vascularizadas donde poder detectar los antígenos (bazo, ganglios), o situarse entre las células de los epitelios de superficie que se hallan en contacto con el medio exterior (piel y mucosas)[1,2,5,13].

El inicio del proceso madurativo de los linfocitos T se realiza en el timo. Esta estructura está muy desarrollada en los fetos y recién nacidos, pero involuciona para desaparecer prácticamente en la vida adulta. El timo tiene la función de adecuar las características de los linfocitos T a las funciones que deben desempeñar. Si en el folículo linfoide el proceso se debía regir por el objetivo de obtener células con cada vez mayor afinidad por el antígeno, en el timo el objetivo es generar una población de linfocitos T efectiva en el reconocimiento de antígenos extraños y efectiva también en su capacidad de modulación de la respuesta inmunológica.

La característica definitoria de los linfocitos T normales es que tienen reordenados los genes que codifican el receptor de células T (TCR). El TCR es una molécula de características similares a las de una inmunoglobulina (son, de hecho, proteínas con un origen común), y que ejerce una función esencial de reconocimiento (el dato definitorio del origen B de un linfocito normal es que presenta un reordenamiento de los genes que codifican las inmunoglobulinas). En función del tipo de subunidades que forman el TCR, se definen dos poblaciones de linfocitos T. Los linfocitos T gamma-delta (receptor TCR1) constituyen una pequeña población (5% del total) y se sitúan en el timo, en el revestimiento de los sinusoides esplénicos y en los epitelios. Los linfocitos T alfa-beta (receptor TCR2), que son los más abundantes (95% del total), integran la mayoría de la celularidad de las zonas T. El reordenamiento alfa-beta y, por tanto, un TCR1 sólo se adquiere cuando el reordenamiento gamma-delta no ha sido efectivo (es lo que sucede con más frecuencia). Este proceso es similar a la selección, entre kappa y lambda, que realizan los linfocitos B. El proceso de reordenamiento de los genes que codifican las cadenas gamma y delta en los linfocitos Tγ:δ, o el reordenamiento de los genes que codifican las cadenas beta y alfa en los linfocitos Tα:β, añade variabilidad a la molécula del TCR, lo que le permite reconocer un mayor espectro de antígenos.

La expresión diferencial de dos antígenos (CD4 y CD8) se asocia a la función, cooperadora o supresora, desempeñada por los linfocitos Tα:β. La expresión de CD4 permite el reconocimiento de los antígenos de histocompatibilidad MHC II y, por tanto, la interacción con células presentadoras de antígenos y modulación de la respuesta B (de ahí el nombre, *T-helper* o «cooperadoras»). La expresión de CD8, por el contrario, permite reconocer los antígenos MHC I, expresados, por ejemplo, por las células epiteliales infectadas por un virus, lo que capacita al linfocito TCD8+ para lisar estas células (células T-citotóxicas). Los linfocitos T CD4+ se hallan en una proporción de 2 a 1 respecto a los linfocitos T CD8+, si bien esta proporción se halla alterada con frecuencia en las infecciones virales y, especialmente, en la infección por el VIH. Los linfocitos Tγ:δ no expresan ninguno de estos dos antígenos, y su función no es bien conocida.

Las células precursoras T que inician estos procesos madurativos expresan originariamente los antígenos CD34, CD10, CD2, CD7, CD5 y la enzima TdT. Durante su viaje por el córtex tímico, adquieren los reordenamientos definitivos del TCR y la expresión simultánea de CD3, CD4 y CD8. Luego, se adquiere la expresión diferencial de CD4 o CD8. La expresión de CD34, CD10 y TdT se pierde de manera progresiva al llegar a la zona medular del timo, lugar en el que, predominantemente, adquiere el reordenamiento alfa del TCR y entra en contacto con las zonas B del timo y de la circulación sanguínea. Es muy difícil establecer si existen aspectos morfológicos característicos de una u otra fase.

Una vez se ha finalizado la respuesta primaria y se ha eliminado el antígeno, las células de memoria serían capaces de reentrar en el centro germinal y reiniciar el proceso de expansión y selección por afinidad, si entraran en contacto de nuevo con el mismo antígeno. Este fenómeno se denomina «respuesta secundaria». Existen datos que sugieren que una de las posibles expresiones morfológicas de las células de memoria podrían ser las células de la zona marginal de algunos de los órganos linfoides (v. en páginas anteriores).

La respuesta a los antígenos «T-independientes» se llevaría a cabo en la zona paracortical, y sería similar a la respuesta primaria precoz frente a los antígenos «T-dependientes»: lin-

focito pequeño B «virgen» (respuesta primaria) o célula de memoria (respuesta secundaria) → inmunoblasto B → célula plasmocitoide → célula plasmática. Las células plasmáticas resultantes serían de baja afinidad, y se acumularían en la zona medular de los ganglios linfáticos.

Organización arquitectural de los órganos linfoides secundarios

Ganglios linfáticos (v. fig. 1.28a)

Los ganglios linfáticos son órganos de forma vagamente ovalada, con un borde convexo y otro cóncavo. Por su borde convexo penetran varios vasos linfáticos aferentes, y por su borde cóncavo, que corresponde al hilio, emerge un linfático eferente. Los ganglios linfáticos se hallan rodeados por una delgada cápsula de tejido conjuntivo que emite trabéculas radiadas hacia el interior. Los vasos linfáticos aferentes atraviesan esta cápsula y desembocan en un espacio anfractuoso subcapsular denominado «seno marginal». Este seno emite prolongaciones radiadas que discurren alrededor de las trabéculas conjuntivas (senos trabeculares). Los senos trabeculares terminan por converger en la zona opuesta del ganglio, formando los llamados «senos medulares» que, a su vez, desembocan en el linfático eferente. La zona de tejido linfoide situada inmediatamente por debajo de la zona convexa del seno marginal se denomina «zona cortical», y es de tipo B. En esta zona se concentran los folículos linfoides. La zona de tejido linfoide situada inmediatamente en contacto con la zona cóncava del ganglio se denomina «médula», y es una zona B en la que se concentran las células plasmáticas resultantes de la respuesta primaria. Entre la zona cortical y la zona medular existe una franja de tejido linfoide que se denomina «zona paracortical», que corresponde a una zona en la que predominan las células T. Por el hilio del ganglio penetra la arteria nutricia, que da lugar a una red capilar en la zona cortical. Esta red desemboca en las vénulas de endotelio alto (vénulas poscapilares) situadas en la zona paracortical que, a su vez, desembocan en las venas hiliares.

Bazo

El bazo es un órgano linfoide de forma ovalada y con una cara convexa y otra aplanada. En su cara aplanada se encuentra el hilio del órgano, por el que penetra la arteria esplénica. Este vaso se ramifica dando lugar a arterias de menor calibre que, siguiendo tabiques conectivos, se distribuyen de manera radiada por el interior del órgano dando lugar, finalmente, a arteriolas que abandonarán las trabéculas. La zona T del bazo corresponde a las vainas de tejido linfoide situadas alrededor de estas arteriolas. Inmediatamente por fuera de estas vainas, y en contacto directo con ellas, se hallan los folículos linfoides, que corresponden a las zonas B del bazo. A diferencia de lo que ocurre en la mayoría de los ganglios linfáticos, estos folículos suelen tener una zona marginal prominente. Las arteriolas terminan vertiendo su sangre en sinusoides de paredes discontinuas o directamente en el intersticio (cordones de Billroth), por lo que el tejido linfoide esplénico (que corresponde desde un punto de vista macroscópico a la «pulpa blanca»), a diferencia de lo que ocurre en los otros órganos linfoides secundarios, se halla literalmente bañado por sangre (que corresponde desde un punto de vista macroscópico a la «pulpa roja»). La sangre que circula por el interior del bazo es drenada por los sinusoides hacia venas que convergen en el hilio para dar lugar a la vena esplénica.

Tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT)

No constituye un órgano bien definido sino acumulaciones no encapsuladas de tejido linfoide, adyacentes a diferentes mucosas (amigdalar, intestinal [placas de Peyer], bronquial) y con una organización similar. En el interior del epitelio de revestimiento pueden observarse pequeños grupos de células B. Inmediatamente por debajo de este epitelio, se sitúan numerosas células plasmáticas y folículos linfoides. Alrededor de los folículos linfoides se dispone la zona T.

Tejido linfoide asociado a la piel (SALT)

En la epidermis existen células capaces de procesar antígenos (células de Langerhans) y de presentarlos a linfocitos T, pero no existe aparentemente una organización tan definida como la que presenta el tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT).

LINFOMAS NO HODGKINIANOS

Epidemiología

Los linfomas no hodgkinianos (LNH) tienen una incidencia de entre 3 y 6 casos por cada 100.000 habitantes y año, y son la causa del 3% de la mortalidad por procesos neoplásicos en el total de la población de nuestro medio[4,13-17]. Desde la década de 1970 se ha registrado un aumento en la incidencia de LNH entre la población general y, paralelamente a la extensión de la infección por el VIH, un aumento sustancial en su incidencia entre los adultos jóvenes. Como grupo, son cuatro veces más frecuentes que los linfomas de Hodgkin, y tienen asimismo una tasa de mortalidad 10 veces mayor que la de éstos. La mayoría de los LNH aparecen en la edad adulta (media: 55-66 años), pero algunos tipos se presentan de forma preferente en la edad infantil, y otros muestran, de manera característica, una distribución bimodal. La incidencia es discretamente mayor en los varones (1,4:1). Algunas de las entidades incluidas en el grupo de LNH tienen una distribución geográfica o poblacional peculiar, que probablemente responde a la relación etiológica descrita entre algunos de estos procesos y factores como las radiaciones ionizantes, la exposición a ciertos productos químicos (pesticidas, derivados del benceno, etc.) o la infección por determinados virus (HTLV-1, BVE, HHV-6 y 8).

Los LNH de fenotipo B son entre 8-9 veces más frecuentes que los de fenotipo T[4,13], excepto en la edad pediátrica, en la que los linfomas T son dos veces más frecuentes que los B, y adquieren, con mucha frecuencia, un comportamiento leucémico (tabla 25.1). Este dato contrasta con el hecho de que en el tejido linfoide y en sangre periférica, la población T es, al menos, 3-4 veces superior a la población B. Se desconoce cuál es la razón del predominio de los linfomas B, pero es posible que los mecanismos celulares implicados en la proliferación y diferenciación de las células B (expansión clonal en el folículo linfoide, reordenamientos y mutaciones repetidas del material genético, activación y desactivación continuada de los procesos reguladores de supervivencia y muerte celular o apoptosis) determinen que esta población tenga más probabilidades de sufrir una transformación neoplásica.

Clasificación de los linfomas no hodgkinianos

La clasificación de los linfomas no hodgkinianos ha sido, desde finales de la década de 1970 hasta finales de la década

TABLA 25.1

Frecuencia de los distintos tipos de linfomas no hodgkinianos

	(%)
Linfomas de células B	88
Linfoma difuso de célula B grande	31
Linfoma folicular	22
Linfoma de célula B grande mediastínico	2
Linfoma de la zona marginal extranodal (MALT)	8
Leucemia linfocítica crónica-linfoma de célula pequeña	7
Linfoma del manto	6
Linfoma de Burkitt/Burkitt-*like*	3
Linfoma de la zona marginal nodal	2
Linfoma linfoplasmacítico	1
Linfoma de la zona marginal esplénica	< 1
Linfomas de células T	12
Linfoma T-periférico (sin especificar)	4
Linfoma anaplásico de célula grande	2
Linfoma/leucemia linfoblástico de células T precursoras	2
Linfoma de células T/NK extranodal, de tipo nasal	1
Linfoma de células T angioinmunoblástico	1
Micosis fungoides	< 1
Linfoma de células T, de tipo enteropático	< 1
Linfoma/leucemia de células T del adulto	< 1

TABLA 25.2

Clasificación OMS (2001)

Neoplasias de células B
Neoplasias de células precursoras B
Leucemia/linfoma linfoblástico de células B precursoras
Neoplasias de células B maduras
Leucemia linfocítica crónica/linfoma de linfocito pequeño
Leucemia prolinfocítica de células B
Linfoma linfoplasmacítico/macroglobulinemia de Waldenström
Linfoma de células B de la zona marginal esplénica
Leucemia de células peludas (*hairy cell*)
Neoplasias de células plasmáticas:
Mieloma de células plasmáticas
Plasmocitoma
Enfermedades con depósito monoclonal de inmunoglobulinas
Enfermedades de cadenas pesadas
Linfoma de células B de la zona marginal extranodal (linfomas MALT)
Linfoma de células B de la zona marginal nodal
Linfoma folicular
Linfoma de células del manto
Linfoma difuso de célula B grande
Linfoma de célula B grande mediastínico (tímico)
Linfoma de célula B grande intravascular
Linfoma primario de los derrames
Linfoma/leucemia de Burkitt
Granulomatosis linfomatoide

Neoplasias de células T
Neoplasias de células precursoras T
Leucemia/linfoma linfoblástico de células T precursoras
Neoplasias de células T/NK maduras
Leucemia prolinfocítica de células T
Leucemia linfocítica de células T grandes granulares
Leucemia agresiva de células NK
Linfoma/leucemia de células T del adulto
Linfoma de células T/NK extranodal, de tipo nasal
Linfoma de células T, de tipo enteropático
Linfoma de células T hepatosplénico
Linfoma de células T subcutáneo seudopaniculítico
Linfoma blástico de células NK
Micosis fungoides/síndrome de Sézary
Procesos linfoproliferativos de células T CD30+, primarios cutáneos:
Linfoma anaplásico de células grandes, primario cutáneo
Papulosis linfomatoide
Lesiones *borderline*
Linfoma de células T angioinmunoblástico
Linfoma de células T periféricas, sin especificar
Linfoma anaplásico de células grandes

de 1990, uno de los campos en los que el debate científico ha sido más intenso. La falta de acuerdo entre distintas escuelas de patólogos tuvo como consecuencia la creación de un estado de desorientación y frustración en los clínicos que debían tratar a los enfermos. En la actualidad, esta situación ha cambiado, puesto que existe un consenso casi universal en utilizar la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Esta clasificación se empezó a gestar en 1997, y su versión definitiva se publicó en 2001[17] (tabla 25.2). De manera breve, las contribuciones previas más relevantes son las siguientes. En 1966 Rappaport[18] publicó una clasificación basada en criterios citológicos y arquitecturales, pero con la novedad de que trataba de proporcionar criterios pronósticos. En 1974, dos norteamericanos, Lukes y Collins[19], publicaron su clasificación funcional de los LNH. Esta clasificación presentaba la novedad de subdividir los linfomas en función de su fenotipo B o T, y de clasificarlos en función de su histogénesis. En el mismo año, un grupo de patólogos europeos, liderados por Lennert, publicó el primer esbozo de la que sería conocida como clasificación de Kiel[20]. Esta clasificación, que primero era citológica y arquitectural, en etapas ulteriores incorporó el inmunofenotipo. La clasificación de Kiel, aunque muy parecida conceptualmente a la de Lukes y Collins, difería de la misma en la nomenclatura y en que estratificaba los LNH en grados de malignidad. La falta de acuerdo entre las dos escuelas condujo a que, en 1982, el Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos promoviera una clasificación de consenso conocida como Working Formulation[21]. Esta clasificación estratificaba las entidades en grados de malignidad, y estaba basada en criterios citológicos y arquitecturales pero no tenía en cuenta la histogénesis. Fue considerada, por muchos patólogos, como un paso atrás conceptual, pero fue aceptada por la mayoría de los grupos clínicos como una vía para lograr un «lenguaje común». En 1994, un segundo intento de consenso dio lugar a la clasificación REAL[16] (*Revised European American Classification of Lymphoid Neoplasms*). Esta clasificación, basada en la identificación de entidades clínico-patológicas fue adoptada de manera progresiva por los

patólogos y los clínicos, y ha sido la base de la ulterior clasificación de la OMS. Esta última clasificación estratifica las neoplasias hematológicas en función del linaje: mieloide, linfoide, células histiocíticas/dendríticas, células cebadas. En cada linaje, las distintas entidades se definen en función de una serie de características morfológicas, inmunofenotípicas, genéticas y clínicas. Para cada entidad se postula una «célula de origen». En la mayoría de los linfomas, la célula que sufre el evento transformador inicial se desconoce, por lo que se considera que la «célula de origen» corresponde al estadio de diferenciación de las células tumorales[22]. Así, por ejemplo, suele considerarse que los linfomas foliculares se originan en el folículo, pero es probable que el evento transformador inicial afecte a células menos diferenciadas que, más tarde, al alcanzar la diferenciación folicular, sufren un «stop» madurativo, debido a las alteraciones que presentan. En la clasificación de la OMS de los LNH, las diferentes entidades no se distibuyen en grupos en función de su grado de malignidad. Esta decisión se adoptó porque muchas de las entidades que en las clasificaciones previas eran consideradas de «bajo grado» todavía no son curables y, por el contrario, son ya curables muchas de las de «alto grado». Por otra parte, dentro de cada entidad es posible distinguir grupos de pronóstico favorable o desfavorable en función de diferentes criterios morfológicos, inmunofenotípicos, citogenéticos, moleculares y clínicos.

Procesos linfoproliferativos no hodgkinianos de fenotipo B

Como se ha mencionado con anterioridad, los distintos LNH de fenotipo B tienen un extraordinario paralelismo con diferentes fases del proceso madurativo de las células linfoides B normales (figs. 25.3 a 25.6). Así, en la mayoría de las entidades es posible hallar una explicación plausible a los hallazgos clínicos, inmunofenotípicos y morfológicos, atendiendo a las características de las células linfoides que corresponden a su contrapartida normal. Así, por ejemplo, algunos linfomas con tendencia a la expresión leucémica (como la leucemia linfática crónica) estarían integrados por células similares a las que en situación normal se trasladan de un órgano linfoide a otro. Por otra parte, linfomas con tendencia a presentar un componente plasmacítico (como los linfomas de células de la zona marginal) de hecho, remedan el proceso de diferenciación que realizan las células linfoides que corresponderían a su contrapartida normal.

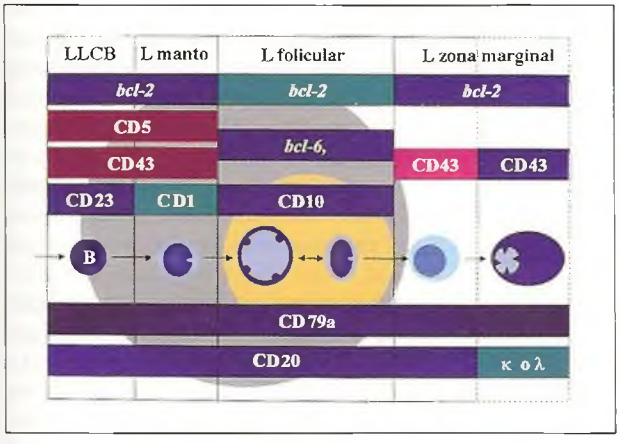


Figura 25.6. Expresión antigénica de los linfomas B periféricos de célula pequeña. En *azul* se han representado aquellos CD que no han modificado su expresión con respecto a la contrapartida celular normal. En *rojo* se han representado aquellos CD que a pesar de ser más característicos de la línea T se expresan en estos linfomas de célula B. En *verde* se han representado proteínas que en condiciones normales no son expresadas por las células que constituyen la contrapartida normal del linfoma. CD1: ciclina D1.

Un hallazgo compartido por muchas de las entidades que integran este grupo de linfomas es la adquisición de la expresión de antígenos más propios de los linfocitos T que de los B (esto es, CD5 y CD43)[4,23]. Esta expresión, que tiene gran utilidad diagnóstica, suele calificarse de «aberrante», pero hay que tener en cuenta que estos antígenos pueden ser detectados en algunos estadios madurativos de las células linfoides B normales. Así pues, es posible que la expresión de los antígenos CD5 y/o CD43 refleje la capacidad de las células tumorales de remedar procesos normales que por el momento desconocemos y, por tanto, que su expresión no sea «aberrante» en sentido estricto.

Determinadas alteraciones citogenéticas son otro rasgo compartido por muchos de los LNH de fenotipo B. Así, es frecuente que los LNH «B» tengan alteraciones que implican a una zona del cromosoma 14 (14q32), en la que se hallan los genes codificantes para la cadena H (pesada) de las inmunoglobulinas[1,2]. En las células linfoides, esta zona se halla sujeta de forma constitutiva a un alto índice de modificaciones de la secuencia génica (reordenamientos y mutaciones) que conllevan, como se ha referido con anterioridad, cambios estructurales en el gen, que se traducen en la obtención de grados diversos de afinidad de las moléculas de anticuerpo por el antígeno[1,2,14]. Probablemente, su alto nivel de «actividad» confiere a este *locus* génico un grado importante de inestabilidad que se traduce en un mayor riesgo de errores, los cuales pueden derivar en la adquisición de características neoplásicas en los linfocitos que los presentan.

Leucemia/linfoma linfoblástico de células B precursoras (leucemia/linfoma linfoblástico B)

INTRODUCCIÓN Y PARALELISMO CON LOS ESTADIOS DE LA LINFOPOYESIS NORMAL

En el conjunto de la población, los linfomas de células precursoras B o T constituyen el 4% de todos los LNH, y en la edad infantil suponen hasta el 30% de los LNH[4,24].

Los linfomas de células precursoras de fenotipo B constituyen sólo el 15-20% (80% de las leucemias de células precursoras son de tipo B) de la totalidad de los linfomas de células precursoras[4,16].

La contrapartida normal de las leucemias/linfomas linfoblásticos B son las células precursoras B de la médula ósea. En consecuencia, estos procesos suelen originarse en la médula ósea, son eminentemente leucémicos y, con poca frecuencia, de origen nodal.

DATOS CLÍNICOS[4,16]

El linfoma de células precursoras B afecta de forma predominante a niños mayores y adolescentes (media de edad: 17 años), y es dos veces más frecuente en varones.

Este proceso muestra una elevada tendencia a presentarse en forma de lesiones cutáneas y/o lesiones óseas osteolíticas, lo que es inusual en los procesos de fenotipo T. La tendencia a la expresión leucémica es muy elevada y, de hecho, hasta el 85% de casos presentan expresión leucémica durante el curso de la enfermedad.

Se trata de un proceso agresivo, de crecimiento rápido. La expresión del antígeno Ki67 se detecta en el 40-80% de las células, índice no tan elevado como el que se observa en los linfomas de Burkitt o en algunos casos de linfomas difusos de células B grandes. Sin embargo, se trata de procesos muy sensibles al tratamiento quimioterápico y potencialmente curables. La tasa de supervivencia a los 3 años se sitúa, en la actualidad, alrededor del 56%.

Existen casos de linfomas de células precursoras B descritos en individuos adultos y de edad avanzada. Se trata de un hecho infrecuente, y en muchos casos corresponden a diagnósticos erróneos que, una vez revisados, han sido reclasificados como formas agresivas o atípicas de linfomas del manto (v. más adelante).

Morfología

Se trata de procesos de crecimiento difuso, constituidos por una población muy monótona de células linfoides pequeñas, de aspecto inmaduro (células precursoras linfoides llamadas también «linfoblastos»), con una elevada densidad celular. Aunque de tamaño similar al de los linfocitos pequeños, los linfoblastos tienen un núcleo con una cromatina de grumos muy finos, a diferencia de lo que ocurre con los linfocitos pequeños. No es infrecuente que en las zonas de infiltración se dispongan en «filas indias» entre las estructuras preexistentes. El dato morfológico más destacable en el linfoma de células precursoras es el elevado número de mitosis y los abundantes signos histológicos de recambio celular (fragmentos de cuerpos apoptóticos, algunos macrófagos con cuerpos tingibles en su citoplasma) (figs. 25.7 y 25.8).

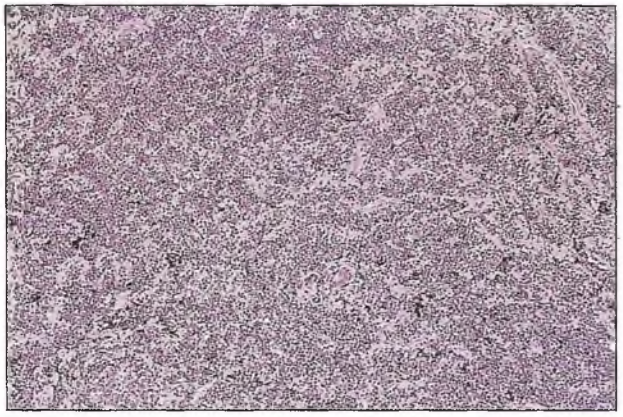


Figura 25.7. Imagen panorámica de un ganglio infiltrado por un linfoma de células precursoras B (H/E, ×100).

Inmunofenotipo

De forma característica, en casi todos los procesos linfoproliferativos de células precursoras, tanto B como T, se detecta la expresión de la proteína TdT en los núcleos de las células tumorales (fig. 25.9) (deoxinucleotidil-transferasa terminal). Sin embargo, aunque este marcador es el de mayor utilidad diagnóstica, no es del todo específico, puesto que puede expresarlo un pequeño porcentaje de células (10-20%) en algunas leucemias mieloides agudas. En los linfomas/leucemias de células precursoras B se detecta expresión de CD79a (en condiciones normales es un marcador B de expresión más precoz que CD20, pero puede expresarse

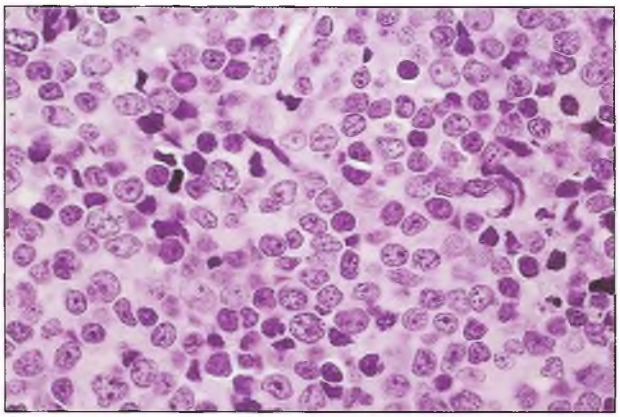


Figura 25.8. Las células tumorales son de tamaño ligeramente superior al de los linfocitos pequeños, de cromatina más fina y muy frágiles, por lo que con frecuencia se observan imágenes de aplastamiento (H/E, ×400).

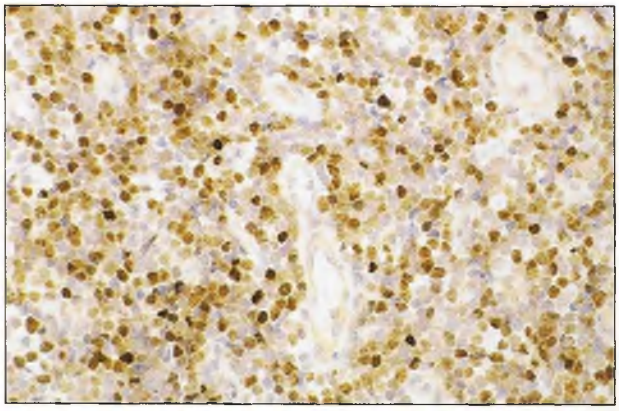


Figura 25.9. Expresión nuclear de la enzima TdT (PAP, ×200).

también en linfomas de células precursoras T, en linfomas NK y en leucemias mieloides), del antígeno CD10 (expresado en condiciones normales por células pre-B y por las células linfoides del centro germinal), y puede detectarse CD43. Este último antígeno se expresa en condiciones normales en las células precursoras B y T, así como en los linfocitos T maduros, células plasmáticas y células mieloides. El antígeno CD20 se halla ausente en las formas más inmaduras (50% de casos), las cuales, en ocasiones, expresan CD34. La expresión del antígeno CD45RB (antígeno leucocitario común) puede no detectarse. Este último hecho es importante, pues el diagnóstico diferencial más relevante en los linfomas linfoblásticos (especialmente en niños y jóvenes) son las neoplasias de células pequeñas y redondas, como los tumores neuroectodérmicos primitivos (PNET) y el sarcoma de Ewing. La ausencia de expresión de CD45RB por parte de algunos linfomas linfoblásticos puede conducir a considerar el diagnóstico de PNET-sarcoma de Ewing como más probable que el de linfoma[4,16]. Este error puede ser inducido por el hallazgo de expresión del antígeno CD99, glucoproteína de membrana codificada por el gen *MIC2*[25,26], y que se consideró inicialmente como característica de los tumores neuroectodérmicos primitivos y del sarcoma de Ewing (v. «Citogenética y biología molecular»). Más tarde, se descubrió que CD99 se expresaba también con frecuencia en los linfomas de células

precursoras, aunque de manera especial en los procesos de fenotipo T y, posiblemente, en algunas fases del desarrollo de los precursores linfoides normales. Por tanto, en estos casos el hallazgo de positividad para la TdT permite realizar el diagnóstico de linfoma de células precursoras de manera más concluyente.

Cuando en un individuo de edad avanzada se sospecha el diagnóstico de un linfoma de células precursoras, dada la rareza de esta entidad en este grupo de edad, debe considerarse siempre la posibilidad de un linfoma del manto (especialmente, de su variante blástica). En este sentido, la expresión de CD5 debe orientar hacia este último diagnóstico, pues su expresión es infrecuente en los linfomas linfoblásticos de tipo B[4,16] y frecuente en los linfomas del manto. La positividad para la TdT en los linfomas de células precursoras y de la ciclina D1 en los linfomas del manto permite el diagnóstico diferencial[27,28].

Citogenética y biología molecular

No se han descrito alteraciones moleculares características de los linfomas de células precursoras B, a diferencia de lo que ocurre en los procesos de fenotipo T. La alteración descrita con mayor frecuencia (22% de casos) es la translocación cromosómica t(12;21) en las formas leucémicas, que implica a los genes *TEL-AML1*[4]. El resto de alteraciones descritas en la literatura son infrecuentes e inespecíficas.

La implicación del gen *MIC2* en estos linfomas todavía está siendo estudiada. *MIC2* pertenece al grupo de genes «seudoautosómicos» o «seudogenes»[29-31]. Su *locus* génico se halla en la zona «seudoautosómica» de los cromosomas sexuales (en el brazo corto de ambos), que es la única zona génica en la que existe homología entre cromosoma «X» e «Y», y, por tanto, la única que sufre fenómenos de recombinación génica durante la gametogénesis. CD99 (también conocida como «proteína E2») es la glucoproteína de 29 kDa (32 kDa) codificada por *MIC2*. Su expresión es ubicua y su función desconocida (probablemente regule la expresión de algunas moléculas de adhesión). Se desconoce cuál es el mecanismo por el que se sobreexpresa *MIC2* (CD99) en este grupo de lesiones neoplásicas, aunque se cree que desempeña un papel importante en el proceso de tumorogénesis. Es posible que la translocación t(11;22) pueda tener alguna implicación en ese fenómeno, quizá por implicar a algún gen regulador de la transcripción de MIC2[29-31].

Neoplasias de células B maduras

La mayor parte de los linfomas B están integrados por células linfoides con características morfológicas inmunofenotípicas y moleculares superponibles a las de las células linfoides B maduras que abandonan la médula ósea y pueblan los órganos linfoides secundarios.

Leucemia linfática crónica B/linfoma de linfocito pequeño B

Introducción y paralelismo con los estadios de la linfopoyesis normal

Las características morfológicas e inmunofenotípicas de las células linfoides que integran la mayor parte de las leucemias linfáticas crónicas B (LLC-B) y de los linfomas de linfocito pequeño B (LCP-B) son idénticas y corresponden a las de un linfocito B pequeño, virgen, en su «viaje» desde la médula ósea hasta el folículo primario, ambas localizaciones incluidas. En los mantos foliculares normales existe también una población más o menos abundante de estas células. Se trata, pues, de la misma célula linfoide, que puede adquirir expresión leucémica cuando recapitula su desplazamiento desde la médula ósea al ganglio (LLC), o nodal cuando lo que hace es asemejarse a las células de los folículos primarios (LCP). Es probable, pues, que, pese a mantenerse los dos nombres que designan la entidad, sea preferible designarlas por un nombre común, que todavía no se ha consensuado. Un subgrupo de casos de LLC-B/LCP-B presenta, en las células tumorales, mutaciones en las regiones génicas que codifican los segmentos variables de las cadenas de inmunoglobulinas y, por tanto, tendría como contrapartida normal a las células B de memoria.

Datos clínicos[4,24,32]

Si bien la LLC-B comprende el 90% de todas las leucemias crónicas en nuestro medio, el LCP-B únicamente supone el 5% de todos los LNH. En conjunto, constituyen el 6-7% de todos los LNH. Afectan a individuos adultos de edad avanzada (media de 65 años, aunque el 10% de los casos son individuos menores de 40 años), con una ligera incidencia mayor en varones.

El estudio de la LLC se efectúa en el Capítulo 24. Aquí se subraya únicamente la importancia diagnóstica de los hallazgos histológicos ganglionares. La arquitectura ganglionar normal se halla totalmente borrada, y los linfocitos pequeños, que suelen constituir la población mayoritaria, se distribuyen en todos los compartimentos, pero con la peculiaridad de que, a pequeño aumento, suelen apreciarse zonas mal definidas, ligeramente más claras que el resto del infiltrado y que, de forma vagamente nodular, se distribuyen por todo el ganglio linfático (figs. 25.10 y 25.11). Estas zonas se conocen con el nombre de «centros de proliferación» o «seudofolículos», y están integradas por células de tamaño intermedio, con escaso citoplasma basófilo y núcleo redondeado y claro, con un único nucléolo central, denominadas prolinfocitos, y que coexisten con otras de mayor tamaño cuyo aspecto recuerda al de un inmunoblasto, si bien posee un citoplasma menos abundante y más pálido («parainmunoblastos»). Estos dos tipos de células se consideran formas activadas o transformadas, originadas en los linfocitos pequeños. Téngase siempre presente la posibilidad de evolución a linfomas más agresivos, en cuyo caso se pierde el patrón vagamente

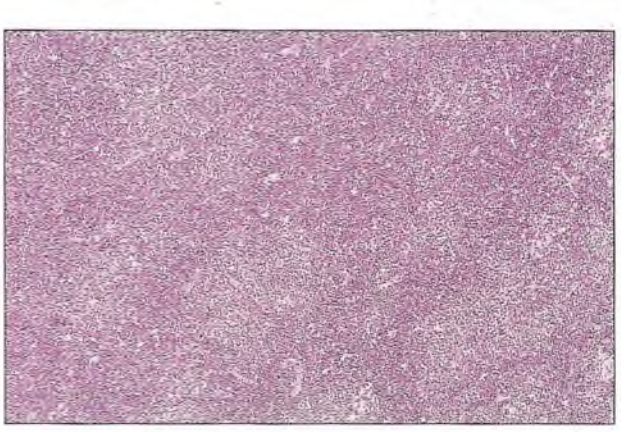


Figura 25.10. Imagen panorámica de una biopsia ganglionar en un caso de leucemia linfática crónica B. Las zonas más claras corresponden a los seudofolículos (H/E, ×40).

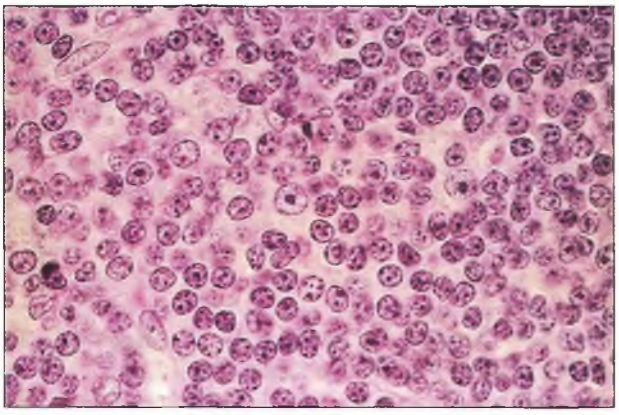


Figura 25.11. A la *izquierda* un seudofolículo con prolinfocitos y parainmunoblastos y a la *derecha* linfocitos pequeños (H/E, ×400).

nodular y se aprecia un crecimiento difuso de células grandes de aspecto inmunoblástico[33,34]. En el capítulo dedicado a la LLC se hará también referencia a las alteraciones citogenéticas y su significado[35,36].

Leucemia prolinfocítica de células B

Su estudio se efectúa también en el Capítulo 23.

Linfoma linfoplasmacítico/macroglobulinemia de Waldenström

Introducción y paralelismo con los estadios de la linfopoyesis normal

Muchos de los linfomas B de célula pequeña (esto es, LLC, linfoma folicular, linfoma del manto, linfoma de células de la zona marginal) pueden presentar diferenciación plasmacítica en un porcentaje variable de las células que los integran. De hecho, las células linfoides que corresponderían a la contrapartida normal de estas entidades pueden hacerlo en condiciones normales. En cualquier tipo de linfoma, la diferenciación plasmacítica de las células tumorales suele asociarse con la expresión monotípica de cadenas ligeras de las inmunoglobulinas (kappa o lambda) en el citoplasma de las células plasmáticas.

El hecho de que diferentes linfomas B puedan presentar diferenciación plasmacítica ha obligado a redefinir el concepto de «linfoma linfoplasmacítico» como un diagnóstico que sólo es posible cuando se han excluido todas estas entidades. Así, el linfoma linfoplasmacítico se define como una proliferación de células linfoides pequeñas que maduran de forma característica a células plasmáticas, las cuales pueden constituir un componente importante de la lesión, y que no corresponde a ninguna de las otras entidades de estirpe B que pueden presentar diferenciación plasmacítica.

Es posible que la contrapartida normal de los linfocitos tumorales que constituyen el linfoma linfoplasmacítico corresponda a linfocitos B pequeños, similares a los que participan en la respuesta primaria al antígeno. Esta respuesta tiene lugar en la zona paracortical (zona T), y da lugar a células plasmáticas productoras de inmunoglobulinas de baja afinidad por el antígeno. Esto explicaría que en el tumor exista una baja tasa de mutaciones somáticas en las regiones variables del gen IgH, ausencia de expresión tanto de CD10 como de la proteína bcl-6, y presencia de un abundante componente de linfocitos pequeños T, histiocitos (a veces, de aspecto epitelioide, que tienden a constituir pequeños granulomas) y mastocitos (componentes normales de la región paracortical). También explicaría la tendencia al crecimiento paracortical-interfolicular, y la presencia de células blásticas aisladas, de aspecto inmunoblástico.

Datos clínicos

Atendiendo a los criterios diagnósticos citados, se trata de una entidad infrecuente (1-2% de todos los LNH B). El comportamiento clínico es más agresivo que el de la LLC y, con frecuencia (hasta el 73% de casos), se halla afectación de la médula ósea y del bazo, además de asociarse con adenopatías generalizadas. La afectación extranodal, aunque posible, no es frecuente. Un hallazgo clínico habitual es la presencia de una paraproteína en suero (especialmente, IgM monoclonal). En ocasiones, este linfoma puede dar lugar a un cuadro clínico de macroglobulinemia de Waldenström o bien a una crioglobulinemia.

El pronóstico es peor que el de la LLC, y sólo el 20% de los pacientes sobrevive más de 5 años. Como en la LLC, los individuos con linfoma linfoplasmacítico suelen ser de edad avanzada (media de 63 años, con discreto predominio de varones), y en el momento del diagnóstico su estadio clínico suele ser también avanzado. La remisión, rara vez completa y en general de poca duración, se consigue en alrededor de la mitad de los pacientes con clorambucilo combinado con prednisona y vincristina y, más recientemente, con cladribina y fludarabina. Los casos con abundante componente de células blásticas (generalmente, de aspecto inmunoblástico) tienen, posiblemente, peor pronóstico y deben evaluarse con cautela. Se considera que, cuando este componente supera el 20% de la celularidad total, puede producirse con mayor probabilidad la progresión a un linfoma de células grandes B (que aparece en el 5-10% del total de casos).

Morfología e inmunofenotipo

Desde el punto de vista morfológico, el linfoma linfoplasmacítico se caracteriza por estar constituido por linfocitos pequeños y por una proporción variable de células con todas las características morfológicas intermedias posibles entre estos linfocitos y las células plasmáticas (linfocitos pequeños –células plasmocitoides– células plasmáticas). El patrón de crecimiento suele ser difuso, y la infiltración inicial se detecta en la zona interfolicular y paracortical. Cuando infiltra la médula ósea, suele hacerlo con un patrón de crecimiento intersticial o difuso, si bien también puede hacerlo con un patrón focal (nodular).

Las células del linfoma linfoplasmacítico expresan los antígenos CD20 y CD79a. Los linfocitos pequeños expresan ambos antígenos en la membrana, y las células con diferenciación plasmacítica expresan el antígeno CD20 en la membrana, y CD79a en el citoplasma. Los linfocitos pequeños del linfoma linfoplasmacítico, a diferencia de los de la LLC-B, no expresan los antígenos CD5 y CD23 (tabla 25.3). En el linfoma linfoplasmacítico se pueden detectar células linfoides $CD23^+$ aisladas entre las células $CD23^-$. Se desconoce si éstas son células tumorales o acompañantes y cuál es su significado. Otro rasgo diferencial entre el linfoma linfoplasmacítico y la LLC-B es que, mientras las células del primero suelen expresar el antígeno CD20 con intensidad, las del segundo suelen hacerlo débilmente, y casi de manera exclusi-

TABLA 25.3

Inmunofenotipo y características diferenciales de los linfomas B constituidos por células pequeñas

	CD20	CD79a	CD5	CD10	CD23	CD45RB	CD43	bcl-2	Ciclina D1	bcl-6	TdT	Molecular
Leucemia/linfoma de células precursoras linfoblásticas	+ (50%)	+	+	+	–	–/+	+	+	–	–	+	t(12;21) t(11;22) (MIC2)
LLC-B/LCP-B	(únicamente + en los seudofolículos)	+	+	–	+	+	+ (80-90%)	+	–	–	–	Trisomía 12 Alteraciones 13q
Leucemia prolinfocítica	+	+	–	–	–	+	+	+	+	–	–	14q+
Linfoma linfoplasmacítico	+	+	–	–	– (+ en escasas células linfoides)	+ (– en células plasmáticas)	+ (40-60%)	+	–	–	–	
Linfoma de células del manto	+	+	+	–	–	+	+ (90%)	+	+	–	–	t(11;14)
Linfoma de Burkitt	+		–	+	–	+	+ (90%)	–	–	+	–	t(8;14)
Linfoma folicular	+	+	–	+	–	+	–	+	–	+	–	t(14;18)
Linfoma de células de la zona marginal, extranodal	+	+	–	–	Variable	+	+ (40-50%)	+	–	–	–	Trisomía 3
Linfoma de células de la zona marginal, nodal	+	+	–	–	Variable	+	+ (40-50%)	+	–	–	–	7q–
Linfoma de células de la zona marginal esplénica	+	+	–	–	Ocasional	–	–	+	–	–	–	
Leucemia de células peludas (*hairy cell*)	+	+	–	–	–	+	?	+	–	–	–	Trisomías 5, 12 Ganancia 14q

va en los seudofolículos. En el 40-60% de casos (según las series) estas células presentan coexpresión «anómala» del antígeno CD43[23]. Esta coexpresión es frecuente en los linfomas B de célula pequeña (LLC/LCP, linfomas de la zona marginal, linfomas del manto), y su significado se desconoce. El rasgo más característico de las células con diferenciación plasmacítica es la expresión monotípica de cadenas ligeras de inmunoglobulinas (kappa o lambda) en el citoplasma. Estas células pueden tener invaginaciones citoplásmicas en el núcleo, en las cuales pueden detectarse acumulaciones globulares de inmunoglobulinas, que cuando son del tipo IgM son PAS+ debido a la presencia de moléculas de hexosa en los complejos. Estas acumulaciones, que simulan una inclusión intranuclear, se denominan cuerpos de Dutcher. Los cuerpos de Dutcher también pueden ponerse de manifiesto mediante las técnicas inmunohistoquímicas destinadas a detectar cadenas ligeras de inmunoglobulinas. Su presencia favorece el diagnóstico de linfoma sobre el de hiperplasia reactiva de células plasmáticas (también se observan en los linfomas «de origen MALT» y en los plasmocitomas-mielomas), aunque no es patognomónica.

Citogenética, biología molecular y otros datos patogenéticos

En aproximadamente la mitad de casos se detecta t(9;14), que implica al gen *PAX5*, pero su relación con la patogenia del linfoma no ha sido demostrada.

Algunos autores atribuyen una relación patogénica entre algunos casos de linfoma linfoplasmacítico y la infección por el virus de la hepatitis C (VHC). En estos casos, es frecuente la existencia de una crioglobulinemia asociada. En este sentido, los datos de los que se dispone en la actualidad son escasos, por lo que no es prudente establecer conclusiones. Cabe destacar, sin embargo, que la infección por el VHC se ha involucrado también en la patogénesis de linfomas MALT en algunas localizaciones (v. más adelante) y que, de hecho, existen casos de linfoma linfoplasmacítico que se han autolimitado al tratar la infección por el VHC con interferón (IFN).

Linfoma del manto

Introducción y paralelismo con los estadios de la linfopoyesis normal

El reconocimiento de esta entidad es una de las aportaciones más relevantes de las nuevas clasificaciones (REAL, OMS). Con anterioridad, los casos de «linfoma del manto» podían ser interpretados como linfomas de origen folicular y crecimiento difuso (linfomas centrocíticos), como formas atípicas de LLC o como linfomas linfoblásticos del adulto. El reconocimiento de la entidad ha permitido un abordaje terapéutico mucho más específico y una evaluación pronóstica correcta de estos pacientes.

Aún existe cierto desacuerdo acerca de la identidad de la contrapartida normal de las células que integran los linfomas del manto. Es posible que corresponda a una pequeña subpoblación de linfocitos «vírgenes» del manto folicular normal. A favor de esta hipótesis existe el hallazgo de que, en un porcentaje elevado de casos, las células tumorales no tienen todavía mutaciones somáticas[37] en las regiones genómicas que codifican las zonas variables de las inmunoglobulinas. Sin embargo, existe un subgrupo de linfomas del manto con mutaciones somáticas en estas regiones. Algunos autores creen que las células del linfoma del manto están relacionadas con los centrocitos.

Datos clínicos[4,13,16,27,28]

Los linfomas del manto constituyen el 7-10% de todos los LNH. Afectan sobre todo a individuos adultos, de entre 55 a 60 años de media, según las series. El 75-80% son varones. La mayoría de los linfomas del manto se diagnostican ya en estadios avanzados (III-IV), quizá por la gran tendencia a afectar localizaciones extranodales (bazo, anillo de Waldeyer). La médula ósea se halla afectada en la mayoría de los casos, y existe expresión periférica hasta en el 50% de casos. La afectación intestinal en forma de lesiones sobreelevadas de la mucosa del intestino delgado (poliposis linfomatoide) se produce en el 19% de casos y, en ocasiones, constituye el primer síntoma del proceso. El curso clínico de esta entidad es muy agresivo. Se pueden conseguir remisiones parciales, pero hoy día se considera una entidad incurable. Los diversos tratamientos empleados (incluido el trasplante de médula ósea) no son efectivos. La media de supervivencia es de unos 3 años desde el diagnóstico (el 27% de supervivencia a los 5 años), pero con frecuentes recidivas. Sólo el 8% de los enfermos sobreviven 10 años o más.

Morfología[4,13,16,27,28]

En la mayoría de casos, las células tumorales tienen un tamaño intermedio, escaso citoplasma y un núcleo de contornos irregulares que recuerda al del centrocito (en ocasiones, es redondeado y recuerda al del linfocito pequeño). El núcleo presenta una cromatina finamente granular y, en general, no posee nucléolos aparentes. En raras ocasiones, las células tumorales presentan un pequeño nucléolo central, lo que puede crear problemas de diagnóstico diferencial con la leucemia prolinfocítica B.

El nombre de «linfoma del manto» fue acuñado porque en algunos casos se observa un patrón de crecimiento peculiar, caracterizado por la sustitución de los mantos foliculares normales por las células tumorales, las cuales se sitúan rodeando los centros germinales preexistentes (figs. 25.12 y 25.13). Este patrón, que simula la existencia de mantos anormalmente ensanchados, es poco frecuente, quizá porque las células tumorales tienden a colapsar de manera progresiva los centros germinales normales hasta que éstos desaparecen junto con su armazón de células dendríticas (FDC). Cuando esto ocurre, el linfoma adopta transitoriamente un patrón

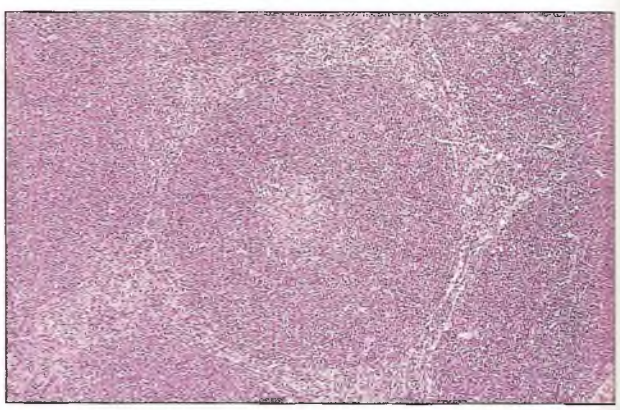


Figura 25.12. Visión panorámica de una biopsia ganglionar con infiltración por linfoma del manto. En el *centro* se observa un centro germinal residual rodeado por un manto ensanchado de origen tumoral (H/E, ×100).

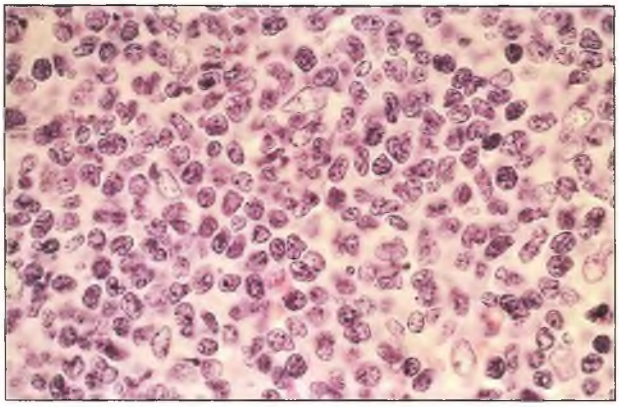


Figura 25.13. Células linfoides pequeñas en un linfoma del manto con núcleo de contornos irregulares y cromatina menos densa que la de los linfocitos pequeños normales (H/E, ×400).

nodular (que puede plantear problemas en el diagnóstico diferencial con un linfoma folicular) y, finalmente, un crecimiento difuso. Este último patrón de crecimiento es el más frecuente en el momento del diagnóstico (el patrón del manto o el nodular pueden detectarse de manera focal), y suele asociarse a la presencia de múltiples histiocitos de citoplasma rosado y homogéneo en la tinción de hematoxilina-eosina. Estos histiocitos se disponen de manera individual, y dispersos «al azar» por toda la lesión, y pueden constituir una ayuda indirecta para el diagnóstico. También se detectan pequeños grupos dispersos de células dendríticas foliculares (CD23+, CD21+).

Cuando el linfoma infiltra la médula ósea, puede hacerlo con los patrones que son habituales en la mayoría de los linfomas (focal, intersticial, difuso), pero es importante recordar que, al igual que el linfoma folicular o el componente de célula pequeña del linfoma de célula grande «B», puede mostrar un patrón de infiltración paratrabecular.

Se han descrito distintas variantes morfológicas de linfomas del manto. Estas variantes han recibido diversos nombres en función de su aspecto morfológico: variante de células pequeñas, variante «linfoblastoide» o «blastoide» y variante «pleomórfica». Si bien no se dispone de datos suficientes, es posible que las variantes morfológicas de carácter blástico se asocien a peor pronóstico y mayor agresividad clínica. Las alteraciones moleculares, en estos casos, son más abundantes, y corresponden básicamente a mutaciones en genes codificantes de otras proteínas reguladoras del ciclo celular, como p16, p21, p27 y p53[38]. Esta última podría estar directamente relacionada con la evolución a estas formas de aspecto «blástico» de linfoma del manto.

INMUNOFENOTIPO Y SU RELACIÓN CON LOS DATOS CITOGENÉTICOS Y DE BIOLOGÍA MOLECULAR

Las células del linfoma del manto expresan antígenos característicos de estirpe B, como CD20 y CD79a (membrana), y al igual que las células de los mantos foliculares normales, expresan IgD de superficie. Las células de este linfoma, al igual que las de la LLC-B, tienen expresión «anómala» de los antígenos CD5 y CD43[23] en más del 80% de casos. Como ya se ha mencionado, estos últimos antígenos, aunque característicos de los linfocitos T, pueden hallarse en algunos linfocitos del manto folicular. Los antígenos CD23, CD10 y la proteína bcl-6 se hallan ausentes, datos que resultan útiles en el diagnóstico diferencial con la LLC-B (CD23–) y el linfoma folicular ($CD10^+$, $bcl\text{-}6^+$) (tabla 25.4).

TABLA 25.4

Método de gradación histológica del linfoma folicular

Grado 1:	0-5 centroblastos por campo de gran aumento
Grado 2:	6-15 centroblastos por campo de gran aumento
Grado 3:	> 15 centroblastos por campo de gran aumento
3a:	> 15 centroblastos, con presencia de centrocitos
3b:	centroblastos en grupos, sin centrocitos residuales

Tomada de la referencia bibliográfica 41.

La mayoría de casos de linfoma del manto van acompañados de la translocación t(11;14)(q13;q32), que comprende el gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas ubicado en el cromosoma 14 y el *locus* BCL1 del brazo largo del cromosoma 11. Esta translocación determina la sobreexpresión del gen *PRAD1* que codifica la ciclina D_1, proteína reguladora del ciclo celular, que en condiciones normales no se detecta en las células linfoides[27,28]. La detección de la expresión de la proteína nuclear «ciclina D_1» es el rasgo inmunofenotípico más característico de esta entidad y, por el momento, se considera casi exclusiva (algunos mielomas la expresan) de este linfoma (fig. 25.14). Como consecuencia, se produce una activación de los procesos regulados por la misma, lo que podría explicar el elevado índice mitótico que se observa en este linfoma, que cursa con un porcentaje de expresión del antígeno Ki67 más elevado que en la mayoría de linfomas B de célula pequeña (LLC/LCP-B, linfoma folicular, linfoma linfoplasmacítico, linfoma de la zona marginal) y que cuando supera el 60% se considera un factor de mal pronóstico[38].

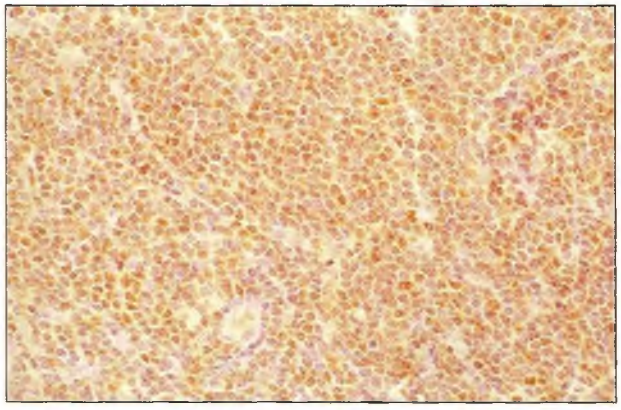


Figura 25.14. Expresión de la ciclina D_1 (PAP, ×200).

La presencia de hipermutaciones en los genes que codifican las regiones variables de las inmunoglobulinas no se asocia de manera significativa con un mejor pronóstico, pero los casos aislados, que presentan largas supervivencias, suelen presentarlas.

Linfoma de Burkitt

Introducción y paralelismo con los estadios de la linfopoyesis normal

El linfoma de Burkitt es una de las neoplasias de crecimiento más rápido y con menor tiempo de duplicación celular conocidos. Por esa razón, su diagnóstico y tratamiento constituyen una urgencia oncológica.

Es probable que las células que constituyen el linfoma de Burkitt tengan como contrapartida normal a los blastos que aparecen en los primeros pasos de la formación del centro germinal antes de la aparición de los centroblastos. Estos blastos son de tamaño mayor al de un linfocito pequeño, pero claramente inferior al de un centroblasto, poseen un núcleo redondeado dotado de múltiples nucléolos pequeños de situación central, y escaso citoplasma basófilo.

En las clasificaciones de Lukes y Collins, y en la de la WF, se le ha denominado también linfoma de células pequeñas no hendidas (*small non cleaved cell lymphoma*, SNCL) para diferenciarlo de los linfomas de células grandes no hendidas (*large non cleaved cell lymphomas*). Como se verá más adelante, el diagnóstico de linfoma de Burkitt se ha de basar fundamentalmente en la coincidencia de una morfología, más o menos típica, con la presencia de la t(8;14) o de sus variantes. Cuando no se disponga de esta última información, no deberá aceptarse si la fracción Ki67, expresiva del grado de proliferación, no está próxima al 100% o si existe expresión inmunohistoquímica de bcl-2. Cabe distinguir, pues, entre linfoma de Burkitt típico, en el cual se dan todas las circunstancias morfológicas y funcionales mencionadas, y variante atípica del linfoma de Burkitt o linfoma Burkitt-*like*, a la cual se aludirá después.

Datos clínicos

Se han descrito, por lo menos, tres formas clínicas de linfoma de Burkitt[4]: las formas endémicas, las esporádicas y las asociadas con inmunodeficiencia. La forma endémica es especialmente frecuente en el África Ecuatorial (5 a 15 casos por 100.000 niños y año, por tan sólo 2 a 3 casos por millón que se observan en EE.UU. de la variedad esporádica) y, en la gran mayoría de casos, se asocia con infección con el virus de Epstein-Barr (VEB). Esta forma endémica afecta a niños cuya edad suele oscilar entre 4 y 7 años, y afecta especialmente a la zona mandibular, con presentación de tumores muy evidentes, a menudo bilaterales, y también a la órbita, ovarios y riñones, sin participación ganglionar ni esplénica y, a diferencia de lo que ocurre en las formas esporádicas, con muy baja incidencia de afectación intestinal. Las formas esporádicas, asociadas al VEB sólo en el 20% de casos, y que son las que se observan en Europa y EE.UU., y también en la mayoría de pacientes del Norte de África, Oriente Medio y Sudamérica, inciden en adolescentes y adultos jóvenes, y se presentan también, generalmente, con enfermedad extraganglionar, si bien con afectación predominante, en contraste con lo que ocurre en las formas no endémicas, del intestino delgado y grueso. Es infrecuente que en tales formas esporádicas se encuentren adenopatías periféricas, y suelen presentarse, como corresponde a su prioritario tropismo intestinal, con dolor o masas abdominales, con cuadro seudoapendicular u obstructivo, náuseas, vómitos, hemorragias digestivas o perforación. La participación de los ovarios es frecuente en mujeres y no infrecuentemente resultan asimismo dañadas vísceras retroperitoneales, como los riñones y el páncreas. La médula aparece afectada ya de inicio en una quinta parte de pacientes, y cuando ello ocurre, las manifestaciones de lesión del SNC se presentan con mayor frecuencia, en forma sobre todo de infiltración meníngea y parálisis de nervios craneales. Esta enfermedad también puede presentarse al inicio como una leucemia aguda del tipo L3, sin clínica linfomatosa predominante y con una mayor incidencia de participación del SNC. Las formas de descripción más recientes son las que acompañan a la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH); el 30% de casos se asocia al VEB. El tratamiento del linfoma de Burkitt se describe en el Capítulo 27.

Morfología

La celularidad que integra este tipo de lesiones crece de manera difusa, con frecuente extensión a las partes blandas y respetando los ganglios linfáticos circundantes. La población celular es monótona, y presenta un elevado grado de amoldamiento celular que produce un aspecto característico. Se observan abundantes mitosis y restos de procesos apoptóticos, y es muy frecuente la presencia de abundantes macrófagos con cuerpos tingibles (restos apoptóticos), que confieren a la proliferación, a pequeños aumentos, un patrón en cielo estrellado típico, si bien no patognomónico. Los casos que tienen el aspecto general de un linfoma de Burkitt, con extensa apoptosis y mitosis numerosas, pero muestran menos monotonía en la forma o el tamaño nucleares, se consideran una variante y se denominan linfomas de Burkitt atípicos o Burkitt-*like*. Los casos de linfoma de Burkitt que presentan diferenciación plasmocitoide también se consideran una variante morfológica.

Inmunofenotipo

La mayoría de casos expresa CD10, bcl-6 e IgM de superficie. Hasta el 90% de casos tienen expresión del antígeno CD43. Ocasionalmente, se detecta expresión del antígeno CD21. No se detecta expresión de CD5, CD23, CD99 o TdT. La ausencia de TdT y de CD99 (sólo existen excepcionales casos con expresión focal de CD99) es un dato útil en el diagnóstico diferencial con los linfomas linfoblásticos, pues ambas entidades pueden tener un aspecto morfológico muy similar. Tampoco se detecta expresión de bcl-2, a diferencia de lo que ocurre en otros procesos con diferenciación centrofolicular. La fracción de proliferación, evaluada a través de la expresión de Ki67, es cercana al 100%. Este dato, junto con la ausencia de expresión de bcl-2, es de gran importancia para el diagnóstico diferencial con los linfomas difusos de célula B grande.

Citogenética y biología molecular

La mayoría de casos de linfoma de Burkitt presenta una translocación t(8;14) que yuxtapone el gen *c-myc* del cromosoma 8 al de la región variable de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas del cromosoma 14, si bien el 15-20% de pacientes tienen una variante que yuxtapone el *c-myc* al *locus* de las cadenas ligeras del cromosoma 2 (t[2;8]) o del cromosoma 22 (t[22;8])[29]. La sobreexpresión anómala de *c-myc*, que forma parte de una familia de genes implicados en la regulación del ciclo celular, provoca una proliferación descontrolada de las células tumorales. La translocación t(8;14) no es exclusiva del linfoma de Burkitt, puesto que, aunque con mucha menos frecuencia, también pueden presentarla los linfomas difusos de célula B grande (LDCBG). La presencia del genoma del VEB en cada variedad de linfoma de Burkitt ya se ha mencionado.

En caso de que se plantee el diagnóstico diferencial con un LDCGB, si el linfoma tiene un índice de expresión de Ki67 de cerca del 100% (> 95%) y es bcl-2– es probablemente un Burkitt o sus variantes. Si tiene un índice de proliferación inferior al 80% es, probablemente, un LDCBG. Si el índice de proliferación se halla entre el 95 y el 80%, o si el tumor es bcl-2+, es recomendable realizar la FISH. Si presenta la t(8;14), es razonable, desde un punto de vista pronóstico y terapéutico, considerarlo como un Burkitt atípico.

Linfoma folicular (linfoma de células centrofoliculares)

Introducción y paralelismo con los estadios de la linfopoyesis normal

El linfoma folicular se define como un linfoma constituido por células del centro germinal folicular (centrocitos y centroblastos) que, por lo menos de manera parcial, tiene un patrón de crecimiento folicular. Los linfomas foliculares puramente difusos, si existen, son extraordinariamente raros, y se ha comprobado que muchos de los casos descritos en la literatura correspondían a linfomas del manto[4,13,16].

La formación de estructuras foliculares asemeja el comportamiento normal de las células centrofoliculares y, al igual que éstas, las células tumorales tienen numerosas mutaciones somáticas en los genes que codifican las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras de las inmunoglobulinas. Asimismo, al igual que en el centro germinal normal, se observan pequeñas diferencias intraclonales en estas regiones («diversidad intraclonal») que sugieren que, hasta cierto punto, las mutaciones observadas en las células tumorales están condicionadas por una respuesta continua de estas células, quizá frente a antígenos desconocidos.

Datos clínicos[4]

En nuestro medio, el linfoma folicular es el segundo linfoma en frecuencia (20-35% de todos los LNH)[13,15,16]. Es infrecuente que en el momento del diagnóstico se halle en estadio I, y de hecho, la mayoría de los casos se diagnostican en estadios avanzados, con frecuente afección sistémica. Los enfermos suelen presentar poliadenopatías periféricas. Las adenopatías inguinales, especialmente frecuentes en esta entidad, constituyen muchas veces la primera localización, y pueden ser las únicas palpables en el 5% de casos en los que el proceso se presenta en estadio limitado (IA-IIA). La expresión en sangre periférica no es infrecuente, y hasta el 42% de los linfomas foliculares afectan a la médula ósea en el momento del diagnóstico. La frecuencia de la afección medular no debería extrañar si se tiene en cuenta que el centrocito normal es una célula que viaja del centro germinal a la médula ósea, donde se diferencia. El bazo, a diferencia de lo que suele ocurrir en el linfoma del manto, no es frecuente que se halle agrandado, pero se ha comprobado un porcentaje elevado de afección en la autopsia (25-55% de casos). La afectación de órganos no linfoides es infrecuente, y acostumbra a presentarse en las fases avanzadas de la enfermedad.

Excepto en los casos que presentan progresión, los linfomas foliculares evolucionan de forma indolente sin llegar, en la mayoría de casos, a la curación. En éstos se da la paradoja, en relación a los linfomas difusos de células grandes, que aun siendo éstos más agresivos y de claro peor pronóstico, se presentan, en cambio, más a menudo relativamente localizados y con menor porcentaje de afectación medular, siendo posible lograr un mayor porcentaje de curaciones. Es típico de los linfomas foliculares que, aun siendo sensibles al tratamiento y con períodos relativamente largos de remisión clínica, no logren curar y vuelvan a recidivar, a menudo de forma otra vez indolente. El porcentaje anual de tales recidivas se cifra en alrededor del 5-10%.

Morfología

Los centrocitos y los centroblastos (siempre deben estar presentes) que integran los folículos tumorales no se diferencian morfológicamente de sus contrapartidas normales. En el 4 a 5% de casos, es posible apreciar, además, células marginales o B-monocitoides alrededor de estos folículos (diferenciación marginal) y células plasmáticas monotípicas en las zonas interfoliculares y, más raramente, en los folículos. Es probable que estas células representen una diferenciación fenotípica de las células centrofoliculares tumorales, tal como ocurriría en condiciones normales. Los folículos tumorales suelen tener un predominio de centrocitos (fig. 25.15), bajo número de mitosis (bajo índice de expresión de Ki67), ausencia de macrófagos con cuerpos tingibles, no están polarizados y carecen de manto folicular. Estas características permiten el diagnóstico diferencial con los centros germinales de la hiperplasia folicular, pero se han descrito linfomas foliculares con toda clase de excepciones con respecto a estos criterios (fig. 25.16). En ocasiones, es posible apreciar alrededor

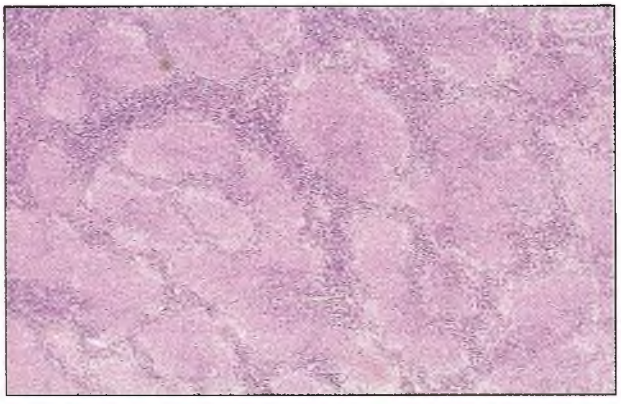


Figura 25.15. Imagen panorámica de una biopsia ganglionar en un caso de linfoma folicular. Obsérvese la tendencia confluente de los folículos tumorales dando lugar a una imagen *back to back* (H/E, ×40).

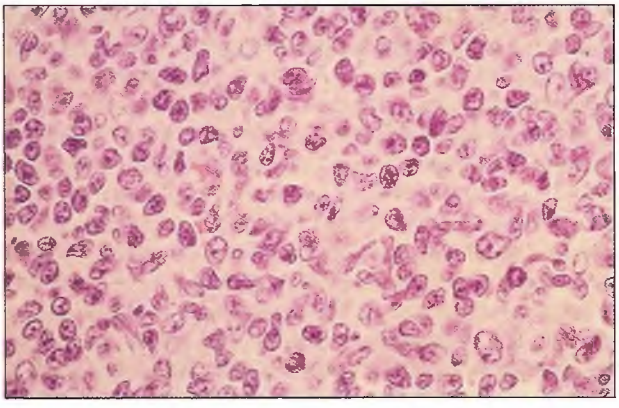


Figura 25.16. Imagen de un folículo tumoral en el que se observan abundantes centrocitos y escasos centroblastos (H/E, ×400).

de los folículos tumorales una corona de linfocitos T pequeños acompañantes que, si no se realiza un estudio inmunohistoquímico, puede interpretarse como un manto folicular y hacer que se piense en la posibilidad de una hiperplasia folicular (estas células T adoptan una disposición similar a la del anillo de linfocitos T que separa el centro germinal normal del manto folicular). Un criterio adicional que puede ser útil en este diagnóstico diferencial es que en los linfomas, a diferencia de lo que ocurre en las hiperplasias, pueden observarse células centrofoliculares también en las zonas interfoliculares, debido a la infiltración de estas zonas por las células tumorales. Así pues, en los linfomas foliculares la morfología (también el inmunofenotipo) de las células presentes en las zonas interfoliculares suele ser similar a la de las que integran los folículos. No obstante, en fases iniciales de la afectación de un ganglio linfático esta regla puede no cumplirse.

Existen numerosos linfomas que pueden tener un patrón de crecimiento nodular (linfoma del manto, LLCB, linfomas de la zona marginal, linfoma de Hodgkin tipo predominio linfocítico nodular, fase celular de la esclerosis nodular) que simula la existencia de folículos tumorales[39]. En estos casos, la ausencia de centroblastos es útil para diferenciarlos de los auténticos linfomas foliculares.

En ocasiones, los folículos tumorales (oscuros) pueden estar separados del tejido interfolicular (oscuro) por un anillo de células de aspecto más claro. Este patrón se denomina «de tipo invertido», y puede ser debido a la acumulación en la interfase de centroblastos tumorales o de células tumorales con diferenciación marginal[40].

Se han descrito, asimismo, múltiples variantes histológicas[4] de linfoma folicular, además de la forma con patrón invertido. Cabe destacar entre ellas la variante con células en anillo de sello (debido a la presencia de una «vacuola» paranuclear en las células tumorales, integrada por cuerpos multivesiculares), otras formas con esclerosis estromal predominante, formas con acumulación de material extracelular amorfo PAS+ en el centro de los folículos tumorales (constituido por restos de membranas, vesículas recubiertas y material electrondenso); formas con organización arquitectural rosetoide (debida a agrupación de las células tumorales alrededor de una zona central constituida por los procesos celulares elongados de las células tumorales); formas con folículos de contornos irregulares denominadas «variante floral», debidas a la infiltración extrínseca de los folículos tumorales por linfocitos pequeños, muchos de ellos correspondientes a linfocitos del manto folicular normal (pueden confundirse con centros germinales que presenten «transformación progresiva» o con un linfoma de Hodgkin tipo predominio linfocítico nodular), y otras variedades morfológicas menos destacables.

En la médula ósea, es muy característico un patrón de infiltración paratrabecular (puede observarse en linfomas del manto y en linfomas de célula B grande). Sin embargo, la presencia de infiltrados linfoides paratrabeculares en los estudios de estadificación realizados tras un período de tratamiento no garantizan la existencia de infiltración tumoral residual. En estos casos, debe demostrarse que estos infiltrados no están integrados por células T acompañantes residuales sino por células B tumorales $CD10^+$, bcl-6^+, bcl-2^+. Si el tratamiento ha incluido anti-CD20, debe utilizarse CD79a, además de CD20, como marcador de linaje B, lo que permitirá detectar las recidivas CD20–. En caso de duda, debe realizarse, en material obtenido del aspirado medular, un estudio de clonalidad y de la t(14;18) mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Parece que el porcentaje de centroblastos en los folículos tumorales posee importancia pronóstica y predictiva[41]. En este sentido, se consideran tres grados. El grado 1 (entre 0 y 5 centroblastos por campo de gran aumento), el grado 2 (entre 6 y 15 centroblastos), el grado 3a (más de 15 centroblastos, pero todavía se observan centrocitos) y el grado 3b (prácticamente, sólo se observan centroblastos). Es un sistema poco reproducible, en el que se debe tener en cuenta el campo de los oculares del microscopio que se utiliza (los valores proporcionados son válidos para un ocular de 18 mm), con el fin de introducir el factor de corrección correspondiente. El grado histológico 3 se asocia con peor pronóstico y mayor probabilidad de evolución a un linfoma difuso de célula B grande (tabla 25.4) por lo que puede beneficiarse de un tratamiento más enérgico. La progresión a un linfoma difuso de célula B grande se produce en el 40-60% de los linfomas foliculares, según las series.

Muchos autores han propuesto que la existencia de zonas de crecimiento difuso puede tener implicación en el pronóstico. Los datos son, sin embargo, poco concluyentes. Únicamente la existencia de un componente difuso, integrado mayoritariamente por células grandes (centroblastos), se asocia con mayor riesgo de progresión a un linfoma difuso de célula B grande, por lo que esta información debe hacerse constar en el informe histológico.

Inmunofenotipo

Las células del linfoma folicular mantienen características inmunofenotípicas similares a las de su contrapartida normal: $CD10^+$ (en más del 90% de casos, si se cuenta con métodos de detección adecuados), bcl-6^+, $CD20^+$, $CD79a^+$, inmunoglobulinas de superficie (IgM o IgG)$^+$, $CD23^-$ (puede detectarse de manera ocasional) y $CD5^-$. En la inmensa mayoría de casos (80-90%), y a diferencia de lo que ocurre en las células centrofoliculares normales, en las células tumorales se detecta una intensa expresión citoplasmática de la proteína bcl-2[42] (fig. 25.17). Este dato es de gran valor en el diagnóstico diferencial con las hiperplasias foliculares, en cuyos centros germinales no se detecta expresión de esta proteína. La expresión de CD43 es excepcional, y únicamente se ha descrito en formas con predominio de células grandes y con zonas de patrón difuso.

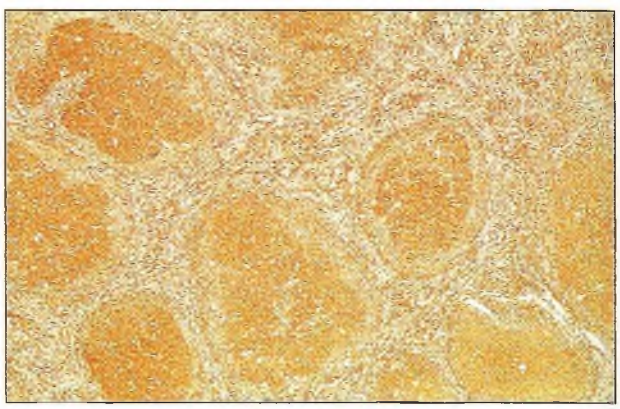


Figura 25.17. Expresión de la proteína bcl-2 en un caso de linfoma folicular. Obsérvese la positividad de los folículos tumorales (PAP, ×100).

La red de células dendríticas foliculares ($CD23^+$, $CD21^+$) suele disponerse en la periferia de los folículos tumorales, adoptando un patrón anular. En los folículos existe un componente variable de células T pequeñas acompañantes ($CD3^+$, $CD5^+$, $CD43^+$), con una disposición similar a la que se aprecia en los centros germinales normales. En ocasiones, es posible observar, en la periferia de los folículos tumorales, un delgado manto de linfocitos B pequeños (CD23+, IgD+), probablemente residuales.

Citogenética y biología molecular

La alteración inicial en el proceso que llevará a la génesis del linfoma folicular es, en la mayoría de los casos, la adquisición en la médula ósea por una célula pre-B de la translocación cromosómica t(14;18)(q32q21)[42] o de una de sus variantes. La t(14;18) se ha descrito en individuos sanos de edad avanzada, y de hecho, posiblemente es una alteración genética asociada con el envejecimiento. Quizá por este motivo, el linfoma folicular se produce en individuos adultos de edad avanzada (media de 59 años, sin un claro predominio de uno u otro sexo), aunque existen algunos casos descritos en niños, adolescentes y jóvenes. Esta alteración citogenética «permite» al gen que codifica la proteína antiapoptótica bcl-2 (cromosoma 18) ser regulado en su ritmo de transcripción por los procesos que rigen la transcripción del gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (IgH, cromosoma 14). En consecuencia, bcl-2 estará sobreexpresado, aunque probablemente sólo cuando se inicie la transcripción del gen de las inmunoglobulinas, esto es, en los procesos de diferenciación y selección por el antígeno en el centro germinal. La sobreexpresión de bcl-2[42] puede ser detectada por técnicas inmunohistoquímicas, y probablemente conlleva una alteración del funcionamiento normal del centro germinal (se inhibe la apoptosis y, por tanto, es posible superar la selección y, asimismo, acumular otras alteraciones genéticas). En las células del centro germinal normal no se detecta expresión de bcl-2 (necesariamente, deja de expresarse en los fenómenos de selección clonal). En consecuencia, la sobreexpresión de esta proteína en células centrofoliculares es indicativa de linfoma folicular; sin embargo, su ausencia no lo descarta, puesto que otras translocaciones, como las que afectan a *BCL-6*, o mutaciones como las de *BCL-6*, también se han implicado en la patogenia de este linfoma. Es posible que la mutación en p53 se halle relacionada con la progresión a linfomas de mayor grado, por lo menos en algunos casos de linfoma folicular[43].

Linfomas de la zona marginal

Introducción y paralelismo con los estadios de la linfopoyesis normal

Este grupo de linfomas todavía está en proceso de clarificación. Por el momento, se trabaja con la hipótesis de que los linfomas de la zona marginal extranodal (linfomas MALT: linfomas del «tejido linfoide asociado a mucosas»), los linfomas de la zona marginal nodal y los linfomas de la zona marginal esplénica (con o sin linfocitos vellosos circulantes), derivarían de células de la zona marginal que, al disponer de factores de localización (*homing*) distintos, tendrían una distribución y un comportamiento ligeramente diferentes[13,16,44,45]. Muchos de los datos histológicos, inmunofenotípicos e incluso moleculares son compartidos por las tres entidades, hecho que se utiliza para argumentar el posible origen común. Existen, sin embargo, algunas discrepancias, y no puede establecerse un total paralelismo entre los tres procesos, al igual que no es posible establecer un paralelismo entre la función normal del tejido B asociado a las mucosas, el de los ganglios linfáticos y el del bazo. En este sentido, los linfomas de la zona marginal esplénica son los que, probablemente, tienen características propias más acusadas.

Las células linfoides de la zona marginal poseen la capacidad de diferenciarse en célula plasmática (el 30-40% de los linfomas de la zona marginal contienen abundantes células plasmáticas), y la posible función de células de memoria. Las células marginales del MALT tienen, aparentemente, mutaciones somáticas en la región variable del gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas, y por ello es posible que se trate de linfocitos que hayan entrado en contacto con un antígeno y hayan sido seleccionados[9,11,46]. Es motivo de discusión si estas células derivan de las centrofoliculares, o si son el resultado de una respuesta inmune que no implica al centro germinal. Lo primero es más probable en las células marginales del MALT, y menos probable en las células marginales esplénicas. Ninguna de las dos posibilidades descarta que si las células de la zona marginal se comportan como células de memoria sean capaces de entrar o reentrar (si son de origen centrofolicular) en los centros germinales durante las respuestas secundarias. En este sentido, es característico que los linfomas de «células de la zona marginal» tipo MALT se asocien con hiperplasia folicular y que, en ocasiones, sea posible detectar la entrada de las células tumorales en los centros germinales reactivos (colonización)[44,47-51].

Los linfomas de la zona marginal, como grupo, suponen el 8-11% del total de LNH[13,15,16] y, por tanto, representan una importante proporción del total de linfomas. Afectan a individuos adultos o de edad avanzada (media de 55-60 años), y suelen comportarse de forma indolente, con tasas de supervivencia similares o ligeramente mejores a las de la LLC/SLL-B. Existen, como se ha mencionado, algunas diferencias entre las tres entidades incluidas en este grupo (tabla 25.5).

Linfomas de la zona marginal extranodal (linfomas del tejido linfoide asociado a mucosas, linfomas MALT)

Se estudian detalladamente en el Capítulo 26 dedicado a los linfomas extraganglionares.

Linfoma de la zona marginal nodal (linfoma B monocitoide)

Datos clínicos[4,10,11,13,16]

El linfoma nodal de la zona marginal supone el 1% del total de LNH. Tiende a desarrollarse en forma localizada, con ocasional esplenomegalia (20%) y afectación de la médula ósea (30-40%). Es un hecho infrecuente que pueda tener expresión en sangre periférica (5% de casos). Se consideran dos subgrupos. Uno de ellos compartiría inmunofenotipo y alteraciones genéticas con los linfomas de origen MALT, y el otro, con los linfomas de la zona marginal de origen esplénico. Hasta un 10% de casos (según las diferentes series) evolucionan a linfomas difusos de células B grandes. El pronóstico es muy similar al de los restantes linfomas de células de la zona marginal, aunque en algunos estudios recientes se sugiere que en estadios III y IV pudiera tener un mejor pronóstico que su contrapartida extranodal. Estos datos todavía deben ser confirmados.

TABLA 25.5

Datos comparativos entre las distintas entidades de linfoma de células de la zona marginal

Entidad	CD5	CD10	CD23	CD43	IgD	Citogenética y biología molecular
Linfoma de células de la zona marginal extranodal (MALT)	–	–	Algunos casos positivos	+ (hasta en un 50-60% de los casos)	–	Trisomía 3 (65-80% casos) Alteraciones del brazo largo del cromosoma 1 (60-65%) Translocación 11;18 (36% casos)
Linfoma de células de la zona marginal nodal (B-monocitoide)	–	–	Algunos casos positivos	+ (hasta en un 50-60% de los casos)	–	Trisomía 3 Alteraciones del brazo largo del cromosoma 1 Translocación 11;18
Linfoma de células de la zona marginal esplénica	–	–	– Muy ocasional +	–	+	Trisomía 3 infrecuente (no más del 18% de casos) Pérdidas de 7q31, 7q32 t(11;14)

El término linfoma de células B monocitoides se ha utilizado como sinónimo, pero estas células tienen una morfología (núcleo arriñonado), situación (intrasinusal), inmunofenotipo (bcl-2–) y probablemente fisiología, diferentes de las células de la zona marginal. Se desconoce si algunos de los linfomas nodales, que se incluyen entre los de diferenciación marginal, podrían representar la contrapartida neoplásica de las células B monocitoides.

Morfología e inmunofenotipo

El aspecto morfológico de una adenopatía, infiltrada por un linfoma marginal de origen MALT o por uno de origen esplénico, es idéntico al de una afectada por un linfoma marginal de origen nodal. El patrón de infiltración puede ser tipo «zona marginal» (alrededor de los mantos de los folículos secundarios), nodular o difuso. También es frecuente la infiltración a través de los senos linfáticos ganglionares, que pueden quedar distendidos por las células tumorales, al igual que ocurre con las células B monocitoides reactivas. El diagnóstico de linfoma nodal de la zona marginal debe hacerse por exclusión, después de haber descartado la existencia de zonas de afectación extranodal, en especial cuando el enfermo presenta un proceso autoinmune. En consecuencia, se acepta exclusivamente cuando existe afectación aislada de adenopatías (localizadas o diseminadas). Si se observa la coexistencia con otro proceso linfoproliferativo bien caracterizado (el más frecuente, el linfoma folicular) debe considerarse que la proliferación de células marginales constituye una diferenciación del primero, y así debe ser diagnosticado (p. ej., «linfoma folicular con diferenciación marginal»)[40].

El patrón de infiltración de la médula ósea, el inmunofenotipo y las alteraciones citogenéticas son superponibles a los de los linfomas de la zona marginal extranodales o esplénicos[10,11,46,49].

Linfoma de la zona marginal esplénica

Introducción y paralelismo con los estadios de la linfopoyesis normal

Se trata de una entidad de definición relativamente reciente. Su contrapartida normal parecen ser las células linfoides pequeñas centrales, y las de tamaño intermedio de situación periférica (células de la zona marginal esplénica), de los folículos primarios de la pulpa blanca del bazo[44,46,50,52]. Algunos de estos linfomas presentan mutaciones somáticas en los genes que codifican las regiones variables de las cadenas de inmunoglobulinas[9], mientras que otros no las presentan.

Datos clínicos[4,13,16,44,46,50,52]

El linfoma de la zona marginal esplénica supone el 1-2% del total de síndromes linfoproliferativos crónicos con expresión hemoperiférica (linfoma esplénico con linfocitos vellosos circulantes), y el 25% del total de linfomas esplénicos de bajo grado. A la esplenomegalia y linfocitosis características de la entidad se añaden pocos datos clínicos asociados: la presencia de adenopatías es muy infrecuente y, ocasionalmente, los individuos pueden presentar una proteína monoclonal. La evolución, indolente, no parece que los haga susceptibles al tratamiento quimioterápico convencional. La mayoría de pacientes han sido tratados con agentes alquilantes, asociados o no con corticoides. Con la esplenectomía se han conseguido tasas de remisión prolongadas, pero, con todo, la enfermedad tiende a evolucionar entonces a través de la infiltración medular. Parece que los casos con hipermutaciones somáticas tienen mejor pronóstico que los que no las presentan.

Morfología

Las células del linfoma esplénico presentan una morfología y una disposición arquitectural similar a las células que constituyen los folículos primarios del bazo sano (células similares a linfocitos pequeños que se disponen en la zona central, y células linfoides de tamaño intermedio con citoplasma amplio y pálido que se disponen en la zona marginal) y, con frecuencia, tienen diferenciación plasmacítica[44,46,50,52] (figs. 25.18 y 25.19). Crecen en el bazo, ocupando la pulpa blanca, donde se disponen en forma de nódulos de centro oscuro (células pequeñas) y periferia clara (células de aspecto marginal). En ocasiones, los nódulos sólo están integrados por células pequeñas o sólo por células de aspecto marginal. En su interior, estos nódulos no suelen evidenciar centros germinales normales residuales o, si los tienen

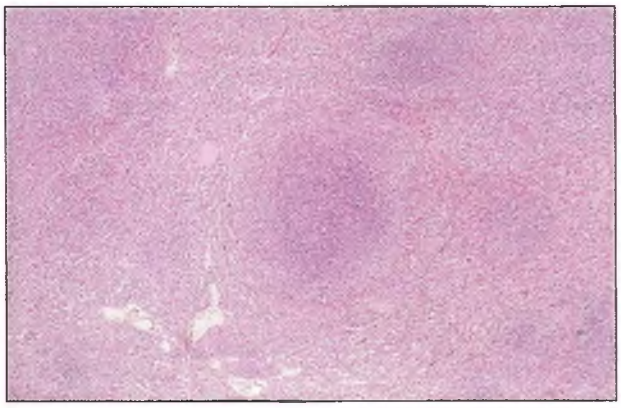


Figura 25.18. Imagen panorámica de un linfoma de la zona marginal esplénica. En el centro se observa un nódulo tumoral con una zona central de color azul intenso, integrada por células pequeñas de escaso citoplasma, alrededor de la cual se disponen células de aspecto marginal formando una capa más pálida (H/E, ×40).

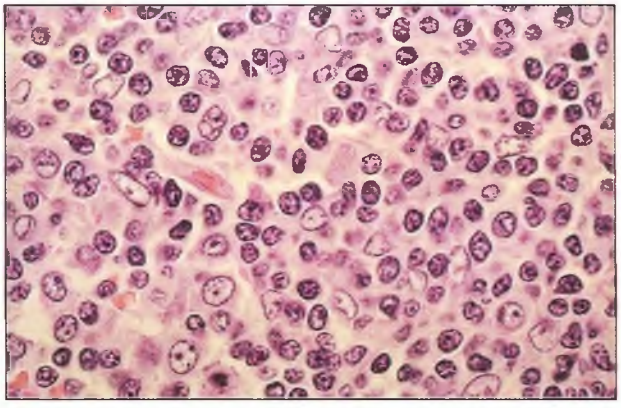


Figura 25.19. La mayoría de las células tumorales poseen un núcleo similar al de los linfocitos pequeños, pero el citoplasma es mucho más abundante. Se observan también algunas células tumorales grandes de aspecto transformado (H/E, ×400).

suelen ser de aspecto involutivo. La ausencia de hiperplasia folicular y, por tanto, de centros germinales y mantos foliculares bien desarrollados determina que este linfoma no tenga un patrón característico de zona marginal (crecimiento alrededor de los mantos de folículos secundarios normales preexistentes). Este hecho es interpretado por algunos autores como una prueba en contra de su similitud con los linfomas de células de la zona marginal nodal y extranodal (tipo MALT), puesto que éstos, al invadir el bazo, sí que dan lugar al patrón característico de zona marginal en un contexto de hiperplasia folicular[46,50,52]. Las células tumorales de los linfomas esplénicos infiltran extensamente la pulpa roja, en la que se disponen en nódulos o dispersas en el intersticio, donde son fácilmente detectables mediante técnicas inmunohistoquímicas. La infiltración de la pulpa roja donde en condiciones normales predominan las células T es un fenómeno que puede ser muy útil cuando se plantea el diagnóstico diferencial entre una hiperplasia linfoide esplénica reactiva y un linfoma de la zona marginal.

La expresión en sangre periférica es frecuente. A veces, sólo se detecta en concentrados de linfocitos[50], y suele asociarse con anemia, trombocitopenia y leucocitosis moderada. Las células circulantes muestran, a veces, un aspecto característico, con prolongaciones citoplasmáticas polarizadas similares a vellosidades, por lo que se las ha denominado «linfocitos vellosos»[50,52], y pueden demostrar una reacción positiva, aunque débil, cuando se detecta la actividad de la fosfatasa ácida tartrato-resistente (TRAP). Estos hallazgos pueden plantear problemas de diagnóstico diferencial con la leucemia de células peludas.

Es frecuente que el linfoma de la zona marginal esplénica infiltre los ganglios linfáticos del hilio esplénico, donde suele dar lugar a un patrón nodular, y la médula ósea. La infiltración de la médula ósea se realiza en forma de infiltrados intersticiales, nodulares o intrasinusoidales. Estos últimos son bastante característicos (la leucemia de células peludas también puede presentarlos) y pueden pasar desapercibidos si no se utilizan técnicas inmunohistoquímicas (anti-CD20) (fig. 25.20). El patrón intrasinusoidal de infiltración también puede observarse en las biopsias hepáticas de enfermos afectados por este linfoma.

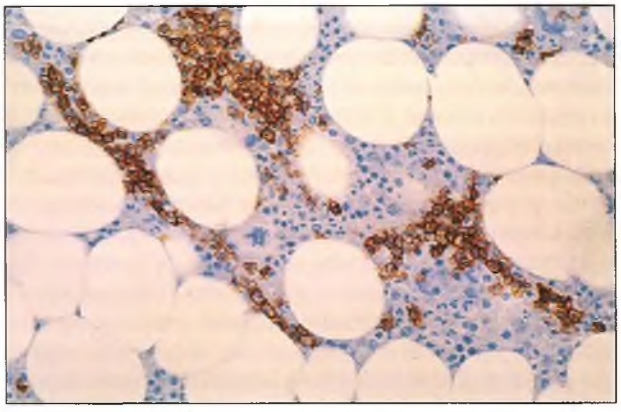


Figura 25.20. Expresión del antígeno CD20 en las células tumorales que se hallan infiltrando los sinusoides de la médula ósea (PAP, ×200).

Inmunofenotipo

Se trata de células de estirpe B ($CD20^+$, $CD79a^+$), que expresan inmunoglobulinas de superficie (sobre todo IgM, pero también IgD) y que, en ocasiones, expresan CD23. Las células con diferenciación plasmacítica pueden expresar inmunoglobulinas monotípicas en el citoplasma. No se han descrito casos convincentes con expresión de CD5, CD10, ni ciclina D1, datos útiles en el diagnóstico diferencial. A diferencia de los linfomas de la zona marginal no esplénicos, la expresión anómala de CD43 es infrecuente[23].

Citogenética y biología molecular

Los hallazgos en el estudio genético de estos linfomas no suelen evidenciar las alteraciones descritas con frecuencia en los linfomas de células de la zona marginal nodal y extranodal (tipo MALT)[49,51,52]. Algunos autores consideran que este hecho es un argumento adicional a favor de que los linfomas de la zona marginal esplénica constituyen un grupo diferente de estos últimos. Otros consideran bastante característico el hallazgo de deleciones de la zona q31-q32 del brazo largo del cromosoma 7. Esta alteración se halla presente en por lo menos el 40% de casos. En la mayoría de

éstos, la deleción es homocigota, hecho que se considera indicativo de la presencia de un posible gen supresor en este *locus* génico. Ocasionalmente, también se describen deleciones del cromosoma 3. La frecuencia de trisomía 3 es muy baja (no superior al 18% de casos). Este último dato es importante, pues en los linfomas de linfocitos de la zona marginal nodales y extranodales esta alteración se halla presente en el 50-85% de casos.

Linfoma difuso de célula B grande

Introducción[4,13,16,20]

En el desarrollo linfoide normal se sucede la aparición de dos tipos de células grandes de aspecto blástico (inmunoblastos y centroblastos, aunque con morfología relativamente variable), que se hallan directamente relacionadas con las distintas vías de activación de la respuesta al antígeno (esto es, inmunoblastos y respuesta primaria extrafolicular, centroblastos y respuesta del centro germinal). Ambos tipos celulares desempeñan una función similar (la expansión clonal), si bien poseen características morfológicas, inmunofenotípicas y moleculares distintas (aunque su morfología no permite siempre su distinción). Los linfomas que constituyen la contrapartida neoplásica de estos tipos celulares son, en esencia, similares desde el punto de vista morfológico. Pueden haberse originado *de novo* (linfoma de célula B grande primario) o bien como progresión de un linfoma preexistente (linfoma de célula B grande secundario). Atendiendo a que no es posible desde un punto de vista morfológico distinguir entre los linfomas B con diferenciación extrafolicular y los que presentan diferenciación centrofolicular, en las clasificaciones actuales se agrupan por el momento todos estos linfomas bajo la misma entidad. Recientemente, los datos obtenidos del estudio de los perfiles de expresión génica ha permitido separar dos grupos de linfomas de célula B grande: uno con un perfil de expresión similar al de las células centrofoliculares, y otro con un perfil similar a las células B activadas extrafoliculares. El primer grupo tendría mejor pronóstico que el segundo. En estos momentos se están buscando marcadores inmunohistoquímicos que, de manera sencilla, permitan distinguir los dos grupos.

Datos clínicos

Los linfomas difusos de células B grandes (LDCBG) constituyen el 33-40% del total de LNH, y en nuestro medio son, probablemente, los linfomas más frecuentes. Afectan a individuos adultos de edad avanzada (media de 64 años), si bien el espectro de edad es muy amplio. La mitad son diagnosticados en estadios localizados (I-II), pero su tasa de crecimiento es muy elevada y, sin tratamiento, casi la totalidad llevan a la muerte del paciente en poco tiempo. De todos modos, con los tratamientos quimioterápicos actuales se consiguen respuestas efectivas en el 60-80% de casos, y en muchos, la curación. La tasa de supervivencia media a los 5 años es del 45-50%.

Morfología e inmunofenotipo

Las células blásticas que constituyen estos linfomas tienen aspecto morfológico variable, desde centroblástico a inmunoblastico. En general, están formados por una mezcla de células linfoides grandes, aunque de tamaño bastante uniforme (excepto en la variante anaplásica), lo que determina que su subclasificación, basada en subtipos celulares, sea poco reproducible. Crecen en forma difusa, y contienen abundantes mitosis y, de forma frecuente, áreas de necrosis que en algunos casos pueden ser muy extensas y entorpecer el diagnóstico (figs. 25.21 a 25.23). En la práctica totalidad de los

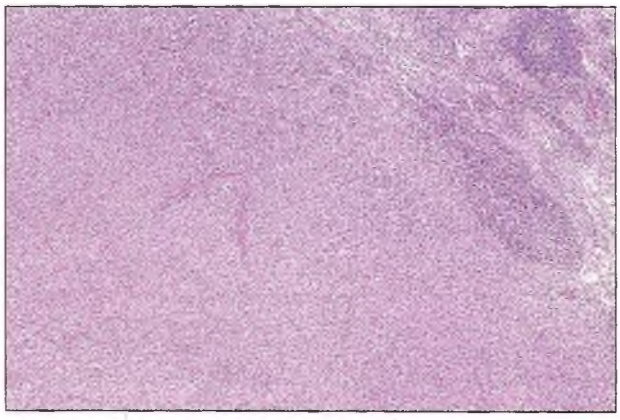


Figura 25.21. Imagen panorámica de linfoma de células B grandes. Obsérvese el carácter difuso de la proliferación y la existencia de una zona de ganglio normal residual de color más oscuro situada en un ángulo superior derecho de la imagen (H/E, ×40).

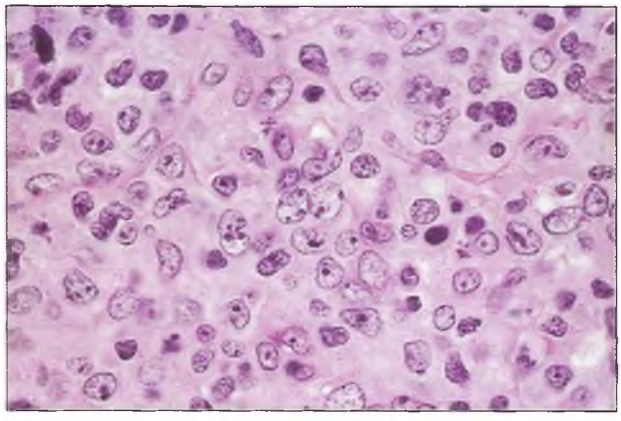


Figura 25.22. Las células tumorales son grandes y tienen aspecto centroblástico. Entre las mismas se observan linfocitos pequeños no tumorales (H/E, ×400).

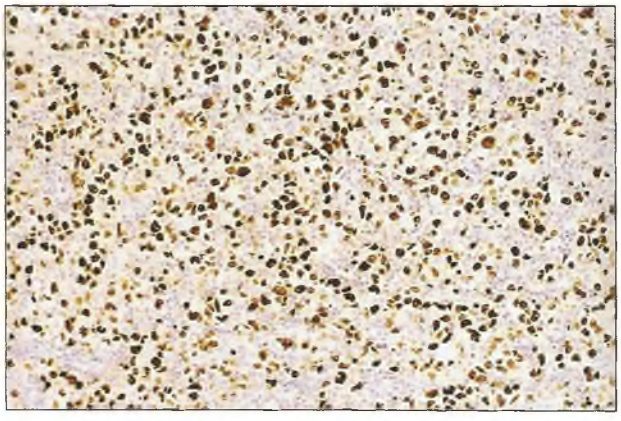


Figura 25.23. Expresión nuclear del antígeno Ki67 en un linfoma difuso de células B grandes. Obsérvese el elevado porcentaje de células positivas (PAP, ×100).

casos se detecta franca expresión de los antígenos CD20, CD79a e inmunoglobulinas CD45RB de superficie (M > G > A), y el 30% expresan CD43[23]. La expresión de CD5 sólo se detecta en el 10% de casos. En esta situación, es conveniente estudiar la expresión de ciclina D1, para realizar el diagnóstico diferencial con las variantes blastoides de linfoma del manto. Al tratarse de células «activadas», en ocasiones, pueden expresar el antígeno CD30 (Ki-1)[4,13,16,53,54]. De hecho, en la mayoría de casos (si no en todos) presentan alteraciones moleculares que sugieren contacto previo con antígenos.

Algunos de los LDCBG son secundarios (20-30%) a linfomas preexistentes (LCP/LLC-B, linfoma folicular, linfoma de la zona marginal y linfomas de Hodgkin de la variante de predominio linfocítico nodular). El 40% de estos linfomas son extranodales[44], y en ese caso tienden a comportarse como masas tumorales (no adenopatías). Es infrecuente que afecten a la médula ósea; cuando así ocurre, suelen ser casos de larga evolución y en estadios muy avanzados.

Determinar el «origen» de un LDCBG puede ser difícil, aunque en ciertas circunstancias puede tener valor pronóstico: los LDCBG secundarios a linfomas foliculares tienen peor pronóstico que los secundarios a linfomas «MALT» (no suelen presentar expresión de *bcl-2*). Algunos hallazgos moleculares pueden ser útiles para distinguir entre un linfoma de células grandes originado *de novo* y uno secundario a un linfoma folicular. Cabe destacar la presencia de alteraciones moleculares que implican al gen *bcl-6* (3q27)[55]. Bcl-6 es un factor de transcripción relacionado con proliferación y diferenciación celular, y parece ser esencial en la constitución de centros germinales en los folículos linfoides normales, donde la proteína que codifica se expresa normalmente y es detectable por inmunohistoquímica. En el 47% de los linfomas foliculares se detectan alteraciones puntuales del gen *bcl-6*, y también en el 80% de los LDCBG (probablemente, pues está directamente relacionado con el origen de los blastos linfoides). El hecho más relevante es que en algunos casos (el 37% de los LDCBG), la alteración del *bcl-6* corresponde a una translocación cromosómica t(3;14) que «excluye» la posibilidad de que existan otras (en concreto, la t[14;18], característica del linfoma folicular). Por tanto, el hallazgo de esta alteración molecular aislada (no detectable por inmunohistoquímica, puesto que no se relaciona con cambios en la expresión de la proteína) sin alteraciones moleculares asociadas en el gen *bcl-2* puede sugerir el origen *de novo* del LDCBG. Aparentemente, los casos *de novo* tienen un mejor pronóstico y respuesta al tratamiento que los casos secundarios, que suelen evolucionar peor. Existen otros datos con valor pronóstico (expresión de Ki67 en más del 80% de las células, peor pronóstico; sobreexpresión de p53[43], peor respuesta al tratamiento y peor pronóstico) que cabe añadir al determinado por el estado general del individuo.

Recientemente, se ha dado gran valor pronóstico al perfil de expresión génico. Para distinguir las formas con perfil centrofolicular, de mejor pronóstico, de las de perfil activado (extrafolicular) se ha propuesto utilizar una combinación de tres marcadores: CD10, bcl-6 y MUM1. La expresión de CD10 sugeriría un perfil centrofolicular, así como también lo sugeriría la expresión de bcl-6 en ausencia de expresión de MUM1 con independencia de la expresión de CD10. La expresión de MUM1 en ausencia de expresión de CD10 indicaría un perfil extrafolicular, con independencia de la expresión de bcl-6. En los casos de perfil extrafolicular, la ausencia de expresión de bcl-2 parece conferir mejor pronóstico.

Variantes

Se han descrito múltiples variantes de los LDCBG, todas con características morfológicas y, en muchos casos, clínicas que permiten distinguirlas del resto. Algunas de éstas, por sus implicaciones en el diagnóstico o pronóstico, merecen ser destacadas:

1. El «linfoma de célula grande B mediastínico»[4] se localiza en la zona correspondiente a la celda tímica, en el mediastino anterior. Se trata en realidad de un linfoma extraganglionar. Esta entidad, atendiendo a los hallazgos moleculares (no existen alteraciones de *bcl-2*, *blc-6*; el 50% presenta trisomía parcial del brazo corto del cromosoma 9), es probablemente la que menos se parece al resto de LDCBG. La OMS ha considerado a este linfoma, como una entidad autónoma separada del LDCBG. Algunos autores han propuesto un origen en células B tímicas. Lo cierto es que su comportamiento clínico es ciertamente peculiar: adultos jóvenes (sobre todo mujeres), de crecimiento rápido e invasión de estructuras adyacentes, como pulmón, pleura, pericardio y pared torácica, con sus manifestaciones correspondientes: síndrome de vena cava superior, hidrotórax o derrame pericárdico. No suele cursar con adenopatías periféricas ni tampoco con afectación de la médula ósea. Cuando recidiva, lo hace a menudo en localizaciones extranodales como el tubo digestivo, hígado, riñón, ovario y también en el SNC. El tratamiento debe ser enérgico.
2. El «linfoma B rico en células T (e histiocitos)»[56] es una variante de reciente definición. En esencia, se trata de un LDCBG asociado con un importante componente de linfocitos pequeños T, probablemente reactivos, que suponen por lo menos el 50% (y hasta el 90%) de la celularidad total. Muy a menudo, el porcentaje de linfocitos B pequeños queda reducido a menos del 10%. Estos linfocitos T, por lo general, no expresan el antígeno CD57, y no tienden a disponerse constituyendo un ribete de una sola célula de espesor alrededor de las células tumorales B (tal como ocurre en el linfoma de Hodgkin tipo predominio linfocítico). Estas últimas se hallan dispersas, y no es infrecuente hallar abundantes histiocitos. Estas células tumorales B son CD20 positivas, y CD15 y CD30 negativas, comportamiento que facilita la diferenciación de esta entidad con la enfermedad de Hodgkin clásica, rica en linfocitos. Afecta a individuos adultos, y suele presentarse en estadios avanzados (III, IV) en el momento del diagnóstico. Con frecuencia se asocia con síntomas B. Se considera de mal pronóstico.
3. Se han descrito algunos raros casos de «LDCBG asociado a piotórax». Suelen producirse en individuos adultos de edad avanzada (media de 63 años), varones fundamentalmente, con largos episodios de pleuritis y/o piotórax. Crece como una masa pleural localizada. El 70% de casos se limitan a esta localización. Existe en casi todos los casos descritos (95%) una relación directa con la presencia de genoma de VEB en las células tumorales, aunque no se observa la asociación con la presencia del herpesvirus tipo 8, que sí se observa en el «linfoma primario asociado a derrame o linfoma de las cavidades» que se describe en el capítulo correspondiente a los linfomas extraganglionares. Más de dos tercios de los pacientes presentan mutaciones puntuales de p53. La supervivencia está directamente relacionada con el estado general del individuo.

4. Existen casos de morfología anaplásica que, en ocasiones, contienen una proporción variable de células similares a las de Sternberg-Reed. Pueden presentar crecimiento intrasinusoidal, lo que puede plantear el diagnóstico diferencial con carcinomas. Estos casos suelen expresar CD30, y deben diferenciarse de la entidad «linfoma anaplásico de células grandes», que es un linfoma T periférico (v. más adelante). Parece que estos linfomas tienen un comportamiento más agresivo que el resto de LDCBG, y se hallan en estadios avanzados en el momento del diagnóstico.
5. Existen raros casos de LDCBG que expresan la proteína ALK completa en el citoplasma. No presentan la t(2;5)[57] u otras relacionadas, por lo que se desconoce el mecanismo de sobreexpresión de ALK. La morfología suele ser de tipo inmunoblástico. Suelen expresar CD45RB, EMA, IgA (citoplásmica de carácter monotípico), CD4 y CD57, pero no CD30. No expresan otros marcadores T o B. Su comportamiento es agresivo.

Existen raros casos con diferenciación plasmablástica, especialmente en la cavidad oral de enfermos infectados por el VIH. Es conveniente conocer esta variante porque es CD45RB– y CD20–, pero CD138+. En más de la mitad de los casos, se detecta el VEB, mediante hibridación *in situ*.

Leucemia de células peludas (hairy cell leukaemia)

Se estudia en el capítulo correspondiente a los síndromes linfoproliferativos crónicos con expresión hemoperiférica (v. Capítulo 23).

Neoplasias de células plasmáticas

Se estudian en los Capítulos 31 y 32.

Procesos linfoproliferativos no hodgkinianos de fenotipo T

Leucemia/linfoma de células precursoras T (leucemia/linfoma linfoblástico T)

Los linfomas de células precursoras de fenotipo T constituyen el 85-90% de los linfomas linfoblásticos[4,24,58]. Tienen como contrapartida normal las células precursoras T del timo.

Datos clínicos

Como en las formas de fenotipo B, afecta principalmente a individuos en edad infantil o adolescentes (media de 17 años). Es más frecuente en varones. Como ocurre en otros procesos de fenotipo T, se presentan preferentemente como lesiones mediastínicas de gran tamaño, que suelen asociarse con frecuencia a síndromes de compresión traqueal o de la vena cava superior, y afectación pleural o pericárdica. El proceso tiende a la diseminación y afectación de múltiples localizaciones extranodales, entre las que destacan las gónadas, el SNC, el anillo de Waldeyer y, de manera típica, afecta extensamente a la médula ósea. Hasta el 82% de casos evoluciona a formas leucémicas que se asocian, obviamente, con un mayor grado de diseminación[4]. De hecho, la distinción entre los linfomas linfoblásticos y las leucemias agudas linfoblásticas es, hasta cierto modo, arbitraria, y depende en gran medida de la forma de inicio del proceso y del número de linfoblastos en sangre periférica. En ambos casos, el tratamiento quimioterápico enérgico es esencial para conseguir una rápida respuesta que, en muchos casos, puede ser curativa, con tasas de supervivencia de hasta el 56% a los 3 años. La afección de la médula ósea y del SNC en el momento del diagnóstico (estadio IV) se asocian con un mal pronóstico, así como las cifras elevadas de LDH[4].

Morfología

Las características morfológicas de los procesos linfoproliferativos de células precursoras T son similares a las de los procesos B.

Inmunofenotipo

Las células tumorales del linfoma-leucemia de células precursoras T expresan los antígenos CD43, CD7 y la proteína TdT[4]. La expresión de CD3, CD4 y/o CD8 es variable, en función del grado de diferenciación. Las formas más inmaduras pueden expresar CD34. El antígeno CD45RB se halla presente en el 80% de casos, dato importante en el diagnóstico diferencial con otras neoplasias no hematológicas. Un 30% de casos expresa también el antígeno CD10.

Biología molecular y citogenética

A diferencia de lo que ocurre en los procesos de fenotipo B, el linfoma-leucemia linfoblástica T presenta múltiples alteraciones moleculares y citogenéticas, aunque ninguna de ellas es característica. Uno de los datos más importantes es la existencia de reordenamiento clonal beta en el gen del TCR, hecho que sustenta el origen T del proceso neoplásico, aunque en algunos casos de fenotipo B (hasta el 20%) también se ha descrito.

Las alteraciones citogenéticas más frecuentes en estos procesos son las translocaciones cromosómicas[4,58]. Hasta el 30% de casos presentan alteraciones de la zona q11 del cromosoma 14 (como se ha descrito en las LPL-T) o la zona q35 del cromosoma 7, probablemente resultantes de errores en el reordenamiento del TCR. Las distintas translocaciones permiten la localización de algunos genes implicados en la regulación del crecimiento-proliferación celular o factores de transcripción (como myc, TAL, hox11, TTG2/Rhom2 y otros) en la zona del TCR, lo que conlleva una alteración en la regulación de su actividad y, por tanto, la posibilidad de la aparición de fenómenos que favorezcan la transformación neoplásica. De todos estos genes, el implicado con mayor frecuencia es el gen *TAL* (llamado también SCL), que posiblemente se halla alterado hasta en un 30% de los casos de linfoma linfoblástico T. Se halla localizado en la zona cromosómica 1q32, que se encuentra focalmente delecionada o translocada en todos esos casos. Codifica una proteína de la familia de las proteínas HLH (*helix-loop-helix*)[29], con una estructura terciaria característica que permite su unión específica al DNA. Esta configuración se halla en muchas de las proteínas que actúan como reguladoras de la expresión de algunos genes.

Linfomas T de células maduras (linfomas T periféricos)

La gran mayoría de linfomas T se hallan integrados por linfocitos T postímicos, es decir, similares a los linfocitos T que, en el curso de su proceso madurativo normal, dejan el timo y van a poblar los órganos linfoides secundarios o periféricos[13]. Estos linfocitos T se denominan también «linfocitos maduros» (en contraste con los linfocitos «inmaduros» del córtex tímico). Los LNH, que son la contrapartida tumoral de estos linfocitos, se denominan «linfomas T de células maduras o linfomas T periféricos». El 75% de los linfomas T de

células maduras se halla integrado por poblaciones de linfocitos CD4+. Característicamente, algunos de estos linfomas pierden la expresión de ambos antígenos CD4 y CD8 (en condiciones normales ocurre en pequeñas subpoblaciones de linfocitos T). También pueden perder otros antígenos asociados a la línea T, con mayor frecuencia CD7 y CD5. Se desconoce, por el momento, el significado de todos estos datos. Sin embargo, son herramientas útiles para el diagnóstico, puesto que no se dispone de marcadores inmunofenotípicos de «clonalidad» como la expresión restringida de cadenas ligeras en los linfomas B.

La definición de las entidades que integran este grupo de linfomas se halla más sujeta a sus características clínicas que a su aspecto morfológico o al inmunofenotipo. Esta peculiaridad responde a que, por el momento, no ha sido posible establecer paralelismos entre las diferentes entidades y las etapas madurativas de los linfocitos T porque el proceso de maduración normal todavía no se conoce con precisión. En consecuencia, la clasificación REAL y la de la OMS han optado por establecer las entidades en relación a la existencia de características clínicas definitorias, a veces asociadas con aspectos morfológicos[58]. Estas entidades pueden ser de presentación nodal, extranodal, cutánea (extranodal también, pero con características clínicas peculiares) o leucémica. Ello ha conducido a restringir la denominación de «linfoma T periférico, sin especificar» a todos aquellos procesos linfoproliferativos de linfocitos T postímicos que no pueden ser encajados en ninguna de las entidades ya bien caracterizadas.

Algunos procesos de células T maduras tienen una gran predilección por la presentación extranodal. Es posible que este hecho refleje la extensa distribución de la población linfoide T en las zonas extranodales, principalmente en relación con los epitelios. Si se dejan aparte los casos cutáneos, muchos de estos linfomas de presentación extranodal tienen características comunes de tipo clínico, histológico e inmunofenotípico (tabla 25.6). La forma de presentación clínica es la característica más definitoria, y permite distinguir las distintas entidades entre sí. Se trata de entidades de comportamiento agresivo (al contrario de lo que ocurría en los procesos extranodales de fenotipo B), con un elevado índice de recidivas (con elevada frecuencia, extranodales), y con bajas tasas de supervivencia (no mayores a 2 años). Las células que integran este grupo de procesos son con frecuencia de fenotipo T citotóxico, o NK. El aspecto morfológico es heterogéneo. Con frecuencia, expresan moléculas como TIA-1 (proteína asociada a los gránulos T citotóxicos), granzima B (enzima proteolítica), perforina (proteína homopolimérica que constituye los poros de lisis utilizados por la célula citotóxica para eliminar las células diana) y CD8 (que participa en el reconocimiento de células diana que expresan MHC I o HLA-I)[44,58-60]. Pueden asociarse a un síndrome hemofagocítico, posiblemente secundario a una infección viral que podría reflejar un estado de inmunodeficiencia subyacente. La descripción de las distintas entidades que actualmente se reconocen dentro de los linfomas T periféricos de localización predominantemente extranodal se efectúa en el capítulo dedicado a los linfomas extraganglionares.

Entidades con frecuente presentación nodal

Linfomas T periféricos, sin especificar

Los linfomas T periféricos «sin especificar»[4,13,58-61] se hallan integrados por linfocitos T alfa-beta, muy probablemente procedentes de las zonas T de los diversos órganos linfoides secundarios (principalmente ganglio y bazo) y, por tanto, con un inmunofenotipo y unas características funcionales muy similares a las de los linfocitos T de las zonas T normales.

Con respecto a la frecuencia, constituyen el segundo de los procesos linfoproliferativos de tipo T. Sin embargo, es un grupo muy heterogéneo en el que, por el momento, no ha sido posible realizar distinciones claras (únicamente ha sido posible establecer subtipos citológicos provisionales, basados en el aspecto morfológico), si bien los estudios de perfiles de expresión génica parece que permiten distinguir tres subgrupos con diferente pronóstico. Se trata de un diagnóstico por exclusión, que se realiza una vez que se han descartado las entidades «bien definidas» que forman parte del grupo de linfomas de células T «maduras».

Datos clínicos

Los linfomas T periféricos «sin especificar» afectan a individuos adultos. Son de presentación predominantemente nodal, generalmente con linfadenopatías generalizadas, hepatoesplenomegalia (en el 20-25% de casos) y afectación de la médula ósea (en el 25-35% de casos, hecho asociado a un peor pronóstico). Así, la mayoría de los casos se diagnostican ya en estadios avanzados (el 75%, en estadios III

TABLA 25.6

Características de los linfomas T periféricos extranodales

Subtipo	EBV	TIA-1	Granzima B/ perforina	CD56	Linaje celular predominante	Linaje celular minoritario
Linfoma T subcutáneo seudopaniculítico	–	+	+	+/–	αβ	γδ
Linfoma T intestinal	+/–	+	+	+/–	αβ	γδ/NK
Linfoma T angiocéntrico (tipo nasal)	+	+	+	+	NK	γδ/αβ
Linfoma T gamma-delta hepatoesplénico	–	+	–	+	γδ	αβ

y IV)[4,58]. Es frecuente que se asocien con síntomas constitucionales, fiebre, prurito, etc., que probablemente derivan de la actividad del componente inflamatorio de carácter reactivo que, con frecuencia, se asocia con la proliferación neoplásica de linfocitos T. El pronóstico de estos procesos se encuentra directamente ligado a la extensión de la enfermedad (estadificación). Las pautas de tratamiento con poliquimioterapia consiguen buenos resultados en las fases iniciales, pero el índice de recidivas es alto. Pueden producirse presentaciones menos frecuentes, como la de un síndrome hemofagocítico asociado, u otras que, como ya se ha dicho, revisten, por su localización extraganglionar y características, personalidad propia, que se describe en el capítulo de los linfomas extraganglionares.

Morfología

En el estudio morfológico destaca una marcada heterogeneidad celular: una mezcla de células linfoides pequeñas y grandes, y una población asociada integrada por eosinófilos, células plasmáticas e histiocitos. El aspecto morfológico del componente inflamatorio asociado puede ser, a veces, peculiar: así, en algunos casos, los histiocitos pueden adquirir aspecto epitelioide y formar numerosos granulomas de pequeño tamaño, que se distribuyen entre las células tumorales. Estos casos se han denominado «linfomas T linfoepitelioides» o «linfoma de Lennert», puesto que fue Karl Lennert quien definió la entidad. Esta morfología asociada con la presencia ocasional de células parecidas a las de Sternberg-Reed puede conducir a la confusión con un linfoma de Hodgkin, especialmente si se tiene en cuenta que en estas células se puede detectar, a veces, el VEB.

La lesión se origina en las zonas T paracorticales de los ganglios linfáticos y progresa para, habitualmente, borrar por completo la arquitectura ganglionar. Algunas veces, sin embargo, se limita a crecer ocupando estas zonas paracorticales y respetando por completo las estructuras foliculares («linfoma de zona T»).

Inmunofenotipo

Las células tumorales expresan antígenos propios de linfocitos T maduros (esto es, CD43, CD7, CD5 y CD3) y pueden expresar CD56, especialmente si son extranodales. La mayoría de los casos nodales son CD4+. Como ya se ha mencionado, la pérdida de expresión de uno o varios de los antígenos de línea T es un dato frecuente en los linfomas T periféricos. Es posible detectar, de manera ocasional, la expresión del antígeno CD30.

Biología molecular y citogenética

No existen alteraciones citogenéticas o moleculares que puedan considerarse características de este tipo de linfoma T periférico.

Linfoma T angioinmunoblástico

Años atrás, la linfadenopatía angioinmunoblástica se consideraba un proceso situado en la zona gris entre los procesos neoplásicos y los procesos reactivos. En la actualidad, se cree que se trata, en la mayoría de los casos, de un linfoma T angioinmunoblástico[4,58]. Con todo, se acepta la existencia de casos aislados de «linfadenopatía angioinmunoblástica» de carácter reactivo, que pueden curar sin tratamiento quimioterápico.

Datos clínicos

Afecta a individuos adultos ya mayores, y se presenta con linfadenopatías generalizadas (79%) y hepatoesplenomegalia (70%). La mayoría de los casos se diagnostican en estadios avanzados (estadios III y IV). La característica más relevante de la entidad es el contexto clínico en el que se presenta: exantema cutáneo (40%), prurito (50%), fiebre (70%), pérdida de peso y alteraciones analíticas como una hipergammaglobulinemia policlonal (70%) o anemia hemolítica Coombs positiva. En el 30% de casos, existe historia previa de exposición a fármacos (antibióticos, anticomiciales, hipoglucemiantes orales), infecciones virales y vacunaciones. Pueden detectarse crioaglutininas, anticuerpos antimusculatura lisa y células basófilas circulantes.

La media de supervivencia de los individuos afectados por esta entidad no supera los 5 años. La sintomatología clínica determina en gran medida el pronóstico, mucho más que el estadio, que, como se ha mencionado, con frecuencia es avanzado. Los corticoides consiguen en algunos casos respuestas parciales, al igual que los quimioterápicos, pero los índices de recidiva son muy elevados y/o las complicaciones mucho mayores si se intensifica el tratamiento quimioterápico.

Morfología e inmunofenotipo

En la mayoría de los casos, la lesión borra la estructura ganglionar de forma difusa. Se halla predominantemente constituida por una celularidad polimorfa, con células linfoides pequeñas e intermedias, blastos (de aspecto inmunoblástico), células plasmáticas, histiocitos y algunos eosinófilos. El porcentaje de células blásticas grandes parece estar relacionado con el pronóstico, de modo que a mayor proporción, peor pronóstico.

Las células T tumorales son CD4+ (las células T CD8+ acompañantes también suelen ser numerosas) y expresan los antígenos propios de los linfocitos T maduros (CD43, CD7, CD5 y CD3) (figs. 25.24 a 25.26). Llama la atención que un porcentaje variable pero significativo de las células T tumorales expresa CD10. Las zonas ocupadas por la lesión presentan una importante proliferación de vénulas poscapilares ramificadas. Alrededor de estas estructuras es posible observar una red perivascular de células CD21+ y CD23+ (células dendríticas o quizá fibroblastos modificados), muy característica y, por tanto, útil para el diagnóstico. Si existen folículos

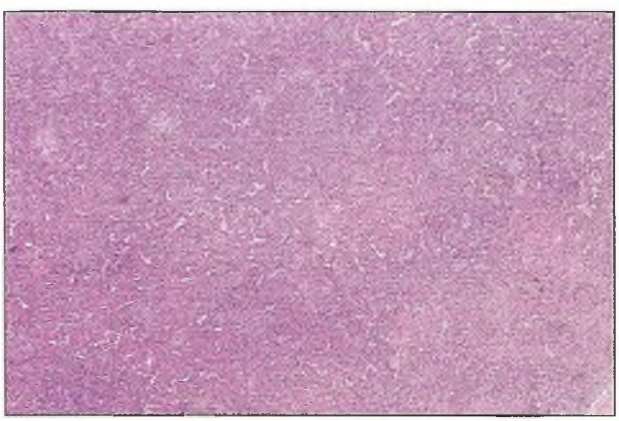


Figura 25.24. Imagen panorámica de un ganglio linfático infiltrado por un linfoma T periférico de tipo angioinmunoblástico. Obsérvese el carácter difuso de la proliferación y la presencia de numerosos vasos (H/E, ×40).

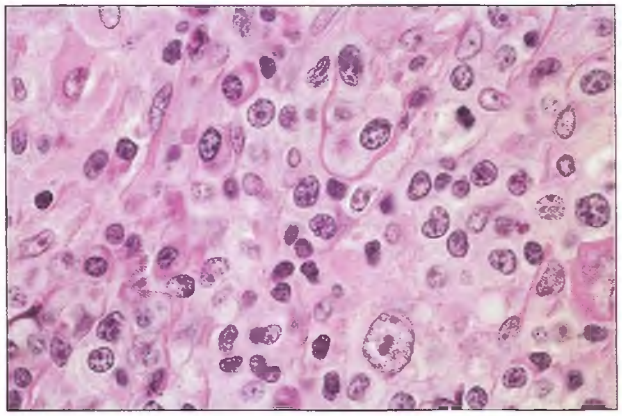


Figura 25.25. Entre los vasos se observan linfocitos pequeños, células plasmáticas y blastos de citoplasma claro (H/E, ×400).

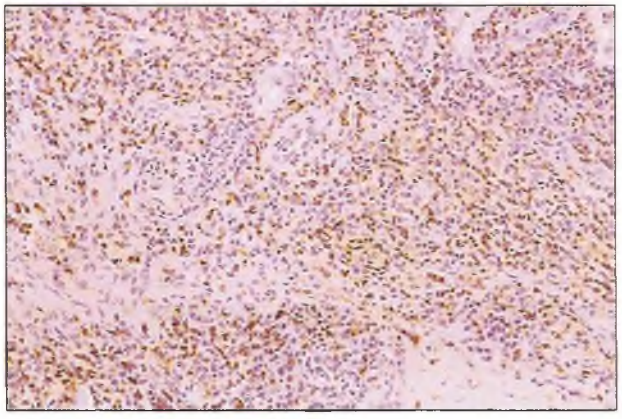


Figura 25.26. Expresión del antígeno CD3 por las células tumorales (PAP, ×100).

linfoides residuales, éstos suelen tener cambios involutivos, con acumulación de células dendríticas y vasos (*burned-out follicles*)[20].

Un hecho destacable desde el punto de vista conceptual es que el proceso linfoproliferativo T que caracteriza el LNH T angioinmunoblástico es capaz de desencadenar una respuesta B intensa, que en el 10% de casos es de carácter clonal[4,59]. En ocasiones, se ha descrito la progresión de las células B asociadas, inicialmente de carácter reactivo, a linfoma difuso de células B grandes (de aspecto inmunoblástico). Los inmunoblastos B presentes en esta entidad están, en muchas ocasiones, infectados por el VEB, quizá producto de la situación de inmunodeficiencia que subyace en muchos de los casos de linfoma T angioinmunoblástico.

Todos estos hallazgos recuerdan el proceso que se desencadena en la activación inmunológica normal de la zona paracortical de los ganglios linfáticos y, de hecho, es posible que esta entidad corresponda a la contrapartida patológica del proceso. La sintomatología clínica que se asocia a esta entidad es debida a los fenómenos inmunológicos que acompañan a la proliferación tumoral.

Biología molecular y citogenética

No existen alteraciones moleculares características de esta entidad. Únicamente se han descrito casos con trisomía 3 y 5, y algunos casos con un cromosoma X adicional.

Linfoma anaplásico de células grandes

Aunque el aspecto anaplásico puede ser descriptivo de la celularidad de algunos procesos linfoproliferativos de células grandes, de fenotipo B o T, el concepto de «linfoma anaplásico» se halla restringido en la clasificacion de la OMS a todos aquellos procesos integrados por células T, generalmente grandes, pleomórficas y frecuentemente con núcleo «en herradura» que expresen, en su superficie y en la zona paranuclear, el antígeno CD30 (proteína transmembrana de la familia del TNF)[55,62,63]. Con toda probabilidad, en el futuro, también se requerirá como elemento definitorio la expresión de la proteína ALK (*anaplastic lymphoma kinase*)[57,58,60,62].

Datos clínicos

Suele afectar con mayor frecuencia a niños y adultos jóvenes (aunque la media de edad entre todos los casos es de 49 años, es más frecuente entre la población joven, con un pico de incidencia entre los 10 y los 19 años), y aunque existen casos descritos en todas las edades, la incidencia es mucho menor a medida que la edad avanza. Supone en conjunto el 2-5% de todos los LNH[13,15,16,58]. Suele asociarse con síntomas B sistémicos (astenia, anorexia, fiebre, etc.), y es de comportamiento agresivo, hallándose con frecuencia diseminado en el momento del diagnóstico. Es frecuente el hallazgo de lesiones óseas. Asimismo, en muchos de los casos se aprecia «infiltración mínima de la médula ósea por células tumorales aisladas», únicamente identificables con el estudio inmunohistoquímico. La afectación de la médula ósea, aunque pueda ser mínima, determina un peor pronóstico. Entre los datos analíticos cabe destacar la expresión de LDH que, al parecer, es un factor pronóstico independiente: cifras de LDH normales se asocian con un mejor pronóstico. Sin embargo, el tratamiento poliquimioterápico (que difiere sustancialmente del utilizado en otras entidades de fenotipo T) consigue tasas de curación superiores al 50%, como ocurre en los linfomas B difusos de células grandes, y de hecho los linfomas anaplásicos de fenotipo T son los linfomas T de mejor pronóstico[58,60]. Este hecho es esencial, pues un diagnóstico correcto, que permita un tratamiento adecuado, tiene necesariamente en estos casos una gran implicación pronóstica.

Morfología

El aspecto citológico define, en parte, la entidad. Las células tumorales son grandes (normalmente, de 2 a 3 veces el tamaño de un centroblasto normal) y con un citoplasma abundante que presenta una región eosinófila cerca del núcleo. De manera característica, en algunas de estas células, el núcleo suele tener forma de herradura (*hallmark cells*). En la mayoría de casos (más del 80%), las células infiltran los senos de los ganglios linfáticos, hecho que obliga a descartar la posibilidad de un carcinoma, un melanoma o un tumor germinal metastásicos. Con frecuencia (50-60% de casos)[54,58,61], las células tienen una distribución perivascular, a modo de rosetas[58,60].

Además de la «forma común» (70%), caracterizada por la presencia de las *hallmark cells,* se han descrito diferentes variedades morfológicas[58,60]. En algunos casos, las células tumorales pueden ser de pequeño tamaño (variante morfológica de célula pequeña), en otros pueden adoptar un aspecto fusocelular (variante sarcomatoide) o ser de aspecto francamente aberrante, con células de gran tamaño y núcleos multilobulados de aspecto casi similar al de los megacariocitos

(variante de célula gigante). En ocasiones, las células tumorales se asocian con numerosos histiocitos acompañantes, de aspecto peculiar (variante linfohistiocítica).

Inmunofenotipo y biología molecular-citogenética

Las células tumorales, especialmente las de mayor tamaño, expresan CD30 en la membrana y en la zona paranuclear. La expresión de ALK (se detecta mediante el anticuerpo monoclonal ALK-1) puede ser nuclear y citoplásmica, sólo citoplásmica o muy raramente membranosa, en función de la alteración molecular implicada en esta expresión. La gran mayoría de los casos también expresan EMA (antígeno epitelial de membrana) en la membrana y en la región paranuclear. Debido a la frecuente pérdida de marcadores de línea T, algunos casos tienen, en apariencia, un «fenotipo nulo». El CD3 no se detecta en el 75% de casos, y también es frecuente que no se detecte expresión de CD7 y/o CD5. Por el contrario, es frecuente detectar expresión de CD43, CD4, CD56, TIA-1, granzima B y perforina. La expresión del antígeno leucocitario común (CD45RB) es variable, lo que sumado a la ausencia de expresión de CD3, puede crear problemas de diagnóstico diferencial con el linfoma de Hodgkin y neoplasias no hematológicas. Por hibridación *in situ* no se detecta VEB.

En la gran mayoría de los casos es posible demostrar, utilizando PCR, un reordenamiento clonal del TCR.

La expresión de ALK es debida a diversas alteraciones que implican al gen *ALK* situado en el cromosoma 2. Este gen codifica un receptor con un dominio catalítico tirosín-cinasa. En condiciones normales no se detecta expresión de ALK en las células linfoides. La expresión más intensa de ALK se localiza en las neuronas de ciertas localizaciones del cerebro en el feto y el neonato[67]. En el 70-80% de los casos de linfoma anaplásico, existe una translocación que implica al gen *ALK* y al gen de la nucleofosmina (*NPM*)[64-68] situado en el cromosoma 5 t(2;5). El resultado es una proteína quimérica formada por segmentos de *ALK* y *NPM* (*NPM-ALK*). Esta proteína quimérica forma dímeros con moléculas de nucleofosmina *wild-type*, que proporciona señales que determinan que estos dímeros sean transportados al núcleo. Por esta razón, la t(2;5)[60,63,64] se caracteriza por una expresión nuclear y citoplásmica de *ALK*. Por otra parte, la formación de homodímeros de la proteína NPM-ALK activa el dominio catalítico de ALK lo que determina sus propiedades oncogénicas. En el 10 al 20% de casos, la translocación detectada es la t(1;2)[69,70]. Esta translocación implica al gen *ALK* y al gen de la tropomiosina 3 (*TPM3*) situado en el cromosoma 1. La formación de la proteína quimérica TPM3-ALK se traduce en una expresión citoplásmica de ALK que suele asociarse a una expresión en la membrana. A diferencia de la NPM, la TPM3 no posee señales de localización nuclear, pero la dimerización de la proteína quimérica TPM3-ALK puede activar el dominio catalítico de ALK. Otras alteraciones citogenéticas implicadas con menor frecuencia en la expresión citoplásmica de ALK son la inv(2), con formación de la proteína ATIC-ALK, y la t(2;17), con formacion de una proteína quimérica integrada por segmentos de ALK y de la cadena pesada de la clatrina. La clatrina es una proteína estructural que se sitúa en la superficie de las «vesículas cubiertas», que constituyen un sistema de transporte intracelular de proteínas. La proteína CLTC-ALK se localizaría también en la superficie de estas vesículas, lo que determinaría que, en la t(2;17), la tinción citoplásmica de ALK tuviera carácter granular.

Entidades con frecuente presentación extranodal

Linfoma de células T de tipo enteropático
Se describe en el Capítulo 26.

Linfoma subcutáneo de células T, paniculítico
Se describe en el Capítulo 26.

Linfoma de células T, hepatoesplénico
Se describe en el Capítulo 26.

Linfoma extranodal de células T/NK, de tipo nasal
Se describe en el Capítulo 26.

Procesos linfoproliferativos, cutáneos primarios, de células T CD30+
Se describen en el Capítulo 26.

Micosis fungoide/síndrome de Sézary
Se describe en los Capítulos 23 y 26.

Procesos con expresión predominantemente leucémica

Leucemia/linfoma de células T del adulto
Se estudia en el Capítulo 23.

Leucemia prolinfocítica de células T
Se estudia en el Capítulo 23.

Leucemia de linfocitos grandes granulares
Se estudia en el Capítulo 23.

Procesos linfoproliferativos asociados con inmunodeficiencia

Los individuos con inmunodeficiencias de tipo congénito y adquirido tienen un mayor riesgo de desarrollar procesos linfoproliferativos[4,71]. La susceptibilidad a desarrollar este tipo de procesos responde a diversos mecanismos, de los cuales la asociación de la infección por el VEB a defectos en el funcionamiento de la respuesta linfoide T es, probablemente, la de mayor importancia.

La mayoría de los procesos linfoproliferativos se asocian con estados de inmunodeficiencia secundarios, que han aumentado en incidencia en las últimas décadas, sobre todo debido a la prevalencia de la infección por el VIH y las terapias inmunodepresoras en el contexto de enfermos trasplantados. Los casos asociados con inmunodeficiencias congénitas son más infrecuentes, puesto que este tipo de enfermedades también son de escasa frecuencia.

Existen algunos rasgos diferenciales, como la tendencia a la expresión extranodal, la frecuente afectación sistémica en el momento del diagnóstico y el predominio de algunos tipos histológicos (en los casos de linfoma de Hodgkin [LH]; los subtipos más frecuentes no corresponden a la «esclerosis nodular» que, sin embargo, es el subtipo predominante en este tipo de linfoma).

Linfomas asociados con inmunodeficiencias congénitas

En el contexto de una inmunodeficiencia congénita[71] existe una elevada tendencia a desarrollar neoplasias, de las cuales más del 50% son linfomas. Muchos de estos procesos se

deben a alteraciones en el cromosoma X, al cual se halla ligada su herencia. Este hecho justifica la mayor incidencia de estos procesos en los varones. Pese a que, en cierto modo, el tipo de proceso linfoproliferativo está asociado al tipo de deficiencia, existen rasgos comunes como la tendencia a la afectación extranodal y el patrón de crecimiento difuso asociado con la citología propia de linfomas de célula grande. Algunos de ellos parecen indicativos, por su aspecto morfológico, de un origen MALT, pero tienen un curso clínico agresivo. En muchos de los casos, los linfomas aparecen en la infancia, y en algunos, como la «inmunodeficiencia severa combinada» la media de edad de aparición es de menos de 2 años. Aunque predominan los LNH, cabe destacar que la frecuencia de LH en estos procesos no es baja, y suele tener el patrón característico de la variante «celularidad mixta» o de la «depleción linfocítica».

En algunos síndromes, como el «síndrome linfoproliferativo asociado al cromosoma X», la asociación con la infección por el VEB es muy frecuente. En estos casos, existe una susceptibilidad a desarrollar formas graves de mononucleosis infecciosa, y el 25% de los individuos presenta linfomas. En otros, como la ataxia-telangiectasia, es posible la aparición de linfomas de fenotipo T, pese a la profunda depleción de linfocitos T normales propia de estos pacientes. En procesos como el síndrome de Wiskott-Aldrich, el 10-20% de los individuos desarrollan linfomas (LNH, predominantemente), con particular predilección por el SNC. También se observan en el 10% de pacientes con ataxia-telangiectasia.

El «síndrome de inmunodeficiencia común variable» (o «hipogammaglobulinemia de aparición tardía»), debida a la deficiencia en la diferenciación de los linfocitos B a células plasmáticas, se acompaña también, en el 1-7% de los casos, de LNH, y con mayor frecuencia, de lesiones hiperplásicas linfoides atípicas que plantean el diagnóstico diferencial con un linfoma.

Linfomas no hodgkinianos asociados con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida

La asociación entre estos dos procesos es tan estrecha que, en el contexto de una infección por VIH, la existencia de un linfoma es un dato definitorio del desarrollo de un síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida)[72].

Los enfermos VIH presentan múltiples alteraciones en el sistema linfoide que son, en muchos casos, características. El aspecto morfológico de las adenopatías presentes en estos enfermos es cambiante, y precisa en muchas ocasiones descartar con certeza la existencia de un linfoma que sería definitorio de sida. Los cambios morfológicos más significativos se producen en el folículo linfoide que, después de pasar por una fase de hiperplasia anormal (grandes centros germinales irregulares de contornos geográficos y con un patrón «en cielo estrellado» muy evidente), pierden el manto folicular y son ocupados progresivamente por células linfoides pequeñas (una mezcla de células linfoides B, probablemente del manto, y células T) que obliteran la arquitectura normal (lisis folicular). Finalmente, evolucionan a centros germinales de aspecto involutivo, desestructurados, de los cuales en muchas ocasiones únicamente persiste la red de células reticulares dendríticas. Estos fenómenos, muy típicos de las adenopatías presentes en los enfermos VIH, es posible que se asocien con un peor pronóstico (una evolución más rápida) de la enfermedad y con la aparición precoz de complicaciones, como las infecciones oportunistas o linfomas.

Aproximadamente el 4-10% de los enfermos VIH+ (según las series) desarrollan en el curso de su enfermedad un LNH, que es la neoplasia linfoide más frecuente en estos enfermos. De hecho, los LNH son la segunda neoplasia, en frecuencia, en los enfermos VIH+, después del sarcoma de Kaposi (que también puede afectar a los ganglios linfáticos y/o al bazo). Los enfermos VIH+ tienen aproximadamente unas 60 veces más riesgo de desarrollar un LNH que la población sana, y no existe ningún tipo de distribución geográfica o por grupos de enfermos.

En la mayoría de casos (más del 80%) el LNH se diagnostica en fases avanzadas, con afectación sistémica. Hasta el 80% de los individuos presentan síntomas B. Típicamente, se origina en localizaciones anatómicas inusuales, como el corazón o las cavidades (cavidad pleural y peritoneal)[73]. En los linfomas originados en las cavidades existe una relación estrecha con la infección por el HHV-8[73] (llamado también virus herpes del sarcoma de Kaposi, o KSHV, hecho que se correlaciona con la casi exclusividad de estas formas de linfoma en individuos homosexuales) y, sin embargo, la asociación a la infección por el VEB es casi nula, a diferencia de lo que ocurre en el «linfoma asociado a piotórax», que afecta a individuos VIH– (v. en el apartado de «Linfomas difusos de células B grandes»). Aparece como una lesión sin masa, que ocupa la cavidad serosa (pleural, fundamentalmente). Las células tumorales tienen un aspecto citológico similar al del linfoma de Burkitt, si bien no comparten características inmunofenotípicas o moleculares.

El 20% de los LNH en enfermos VIH se originan en el SNC. La incidencia de LNH en el SNC en estos individuos es 1.000 veces superior a la que existe en la población sana. De hecho, es el lugar de presentación extranodal más frecuente en los LNH de los enfermos VIH+, y algunos autores sugieren que hasta en el 60-70% de casos de LNH en enfermos VIH existirá, en el curso de la enfermedad, afectación del SNC. Como en otros procesos linfoproliferativos asociados a inmunodeficiencia, existe una elevada tendencia a la afectación extranodal. Además de la afectación de localizaciones, como el SNC, se hallan con frecuencia afectados el tracto gastrointestinal, el hígado y la médula ósea.

El tipo histológico más frecuente es LDCBG. Muchos tienen un aspecto inmunoblástico o pleomórfico. Algunos autores describen una variante plasmablástica típica de la cavidad oral. El linfoma de Burkitt y la variante «Burkitt-*like*» también son frecuentes. El tipo histológico parece asociarse con algunas características clínicas: la edad (las formas de linfoma de Burkitt aparecen en individuos más jóvenes), la localización (las formas de aspecto inmunoblástico se observan en localizaciones extranodales, las formas de linfoma de Burkitt, en localizaciones nodales) o la concentración de linfocitos CD4 en sangre periférica (mucho menor en los de aspecto inmunoblástico).

La coexistencia de la infección por el VEB se produce en el 40-67% de casos, y su frecuencia varía en función del tipo de LNH. Sin embargo, no todos los LNH en estos individuos se hallan asociados con la infección por el VEB. Las translocaciones que implican al gen *myc* son un hallazgo frecuente.

Enfermedad linfoproliferativa del trasplante

La incidencia de procesos linfoproliferativos en individuos sometidos a terapias inmunodepresoras de larga duración en el contexto de trasplantes es variable y oscila entre el 1 y el 12% de casos. En gran medida, está sujeta al tipo de agentes

inmunodepresores utilizados (con OKT3 mayor que si se utiliza ciclosporina) y las características del individuo[74].

El espectro de lesiones que pueden aparecer en estos individuos también es variable, y oscila desde lesiones hiperplásicas de morfología atípica hasta linfomas (LH y LNH). Se trata de procesos extremadamente complejos en su aspecto histológico. Muchos de los casos son masas tumorales de crecimiento más o menos difuso, que pueden afectar a diversas localizaciones o al órgano trasplantado. Las células tumorales son de citología heterogénea: desde células pequeñas de aspecto centrocítico o de linfocito pequeño y células plasmáticas, hasta células grandes, de aspecto inmunoblástico, coexistentes en la misma lesión. En algunos casos predominan las células plasmáticas (que pueden hallarse asociadas con fenómenos de apoptosis). Este tipo de lesiones se han denominado «hiperplasia B polimórfica». En algunos casos se aprecian focos de necrosis extensos. El índice proliferativo es muy elevado. Otros casos son extremadamente monomorfos, y en esa situación cabe plantearse el diagnóstico diferencial con un LNH.

La existencia de monoclonalidad o policlonalidad en el infiltrado linfoide puede ser un dato útil en el diagnóstico diferencial entre un cuadro reactivo o un linfoma verdadero. Es posible que el proceso se inicie siendo policlonal, y que la persistencia de las condiciones que conllevan la proliferación celular determine la aparición de focos monoclonales que sean los que, posteriormente, evolucionen a un linfoma. En ese caso, la aparición de monoclonalidad ya sería un dato indicativo de la naturaleza neoplásica del proceso. En el 70% de casos se describen grupos clonales de células en el contexto de un proceso policlonal. Es posible que, por esa razón, muchos de los casos de lesiones linfoproliferativas en enfermos trasplantados remitan al eliminar la terapia inmunodepresora, pues el problema patogénico no se halla en la clonalidad del proceso sino en la situación de disregulación del sistema inmunológico. La aparición de proliferaciones clonales predominantes se produciría en el contexto de una proliferación policlonal, anormal y persistente.

El 99% de casos presentan restos de genoma del VEB. Existe, por tanto, una estrecha relación entre estos procesos y la presencia de VEB, que probablemente desencadena los fenómenos proliferativos iniciales y permite a las células B escapar de los mecanismos de regulación por los linfocitos T. Se han descrito casos con alteraciones citogenéticas, como la trisomía 11, pero, por el momento, no se han hallado alteraciones características.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. The immune system. En: Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD (eds.). Molecular biology of the cell. 3.ª ed. New York: Garland Publishing Inc, 1994; 1195-1254.
2. Abbas AK, Litchman AH, Pober JS. Cellular and molecular immunology. 3.ª ed. Philadelphia: Saunders, 1998.
3. Varios autores. The CD system of leukocyte surface molecules. Current Protocols in Immunology 1991; 4:1-20.
4. Warnke RA, Weiss LM, Chan JKC, Cleary ML, Dorfman RF. Tumors of the Lymph nodes and Spleen. En: Rosai J, Sobin LH (eds.). Washington: Armed Forces Institute of Pathology (AFIP), 1994.
5. Garside P, Ingulli E, Merica RR, Johnson JG, Noelle RJ, Jenkins MK. Visualization of specific B and T lymphocyte interactions in the lymph node. Science 1998; 281(5373):96-99.
6. MacLennan IC. Germinal centers. Annu Rev Immunol 1994; 12:117-139.
7. Rudin CM, Thompson CB. B cell development and maturation. Semin Oncol 1998; 25(4):435-446.
8. Tsiagbe VK, Inghirami G, Thorbecke GJ. The physiology of germinal centers. Crit Rev Immunol 1996; 16(4):381-421.
9. Miranda RN, Cousar JB, Hammer RD, Collins RD, Vnencak-Jones CL. Somatic mutation analysis of IgH variable regions reveals that tumor cells of most parafollicular (monocytoid) B-cell lymphoma, splenic marginal zone B-cell lymphoma, and some hairy cell leukemia are composed of memory B lymphocytes. Hum Pathol 1999; 30(3):306-312.
10. Isaacson PG, Spencer J. Monocytoid B-cell lymphomas. Am J Surg Pathol 1990; 14:888-891.
11. Piris M, Rivas C, Morente M, Cruz M, Rubio C, Oliva H. Monocytoid B-cell lymphoma, a tumor related to the marginal zone. Histopathology 1988; 12:383-392.
12. McHeyzer-Williams MG. Immune response decisions at the single cell level. Semin Immunol 1997; 9(4):219-227.
13. Grogan TM, Rimsza L, Leith C. A new classification of lymphomas: an update of the Revised European-American Lymphoma Classification. Adv Pathol 1996; 9:161-189.
14. Oprea M, Perelson AS. Somatic mutation leads to efficient affinity maturation when centrocytes recycle back to centroblasts. J Immunol 1997; 158(11):5155-5162.
15. Jaffe ES, Harris NL, Diebold J, Muller-Hemerlink HK. World Health Organization Classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues. A progress report. Am J Clin Pathol 1999; 111(Suppl 1):8-12.
15 bis. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J. Lymphoma classification-from controversy to consensus. The REAL and WHO classification of lymphoid neoplasms. Ann Oncol 2000; 11(Suppl 1):3-10.
16. Harris NL, Jaffe ES, Stein H et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. Blood 1994; 84:1361-1392.
17. Pathology and Genetics of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW (eds.). Lyon: IARC Press, 2001.
18. Rappaport H. Tumors of the Haematopoietic System. En: Atlas of Tumor Pathology, fasc. 8. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, 1966.
19. Lukes RJ, Collins RD. Lukes-Collins classification and its significance. Cancer Treat Rap 1977; 61:971-979.
20. Lennert K, Feller AC. Histopathology of Non-Hodgkin lymphomas. Berlín: Springer-Verlag, 1992.
21. National Cancer Institute sponsored study of classifications of non Hodgkin's lymphomas: Summary and description of a working formulation for clinical usage. The Non-Hodgkin Pathologic Classification Project. Cancer 1982; 49:2112-2135.
22. Küppers R. Mechanisms of B-cell lymphoma pathogenesis. Nature 2005; 5:251-262.
23. Lai R, Weiss LM, Chang KL, Arber DA. Frequency of CD43 expression in non-Hodgkin lymphoma. A survey of 742 cases and further characterization of rare CD43+ follicular lymphomas. Am J Clin Pathol 1999; 111(4):488-494.
24. Brunning RD, McKenna RW. Tumors of the bone marrow. Rosai J, Sobin LH (eds.). Washington: Armed Forces Institute of Pathology (AFIP), 1994.
25. Ambros IM, Ambros PF, Strehl S, Kovar H, Gadner H, Salzer-Kuntschik M. MIC2 is a specific marker for Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumors. Evidence for a common histogenesis of Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumors from MIC2 expression and specific chromosome aberration. Cancer 1991; 67(7):1886-1893.
26. Kovar H, Dworzak M, Strehl S, et al. Overexpression of the pseudoautosomal gene MIC2 in Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumor. Oncogene 1990; 5(7):1067-1070.
27. Bosch F, Jares P, Campo E et al. PRAD-1/Cyclin D1 gene overexpression in chronic lymphoproliferative disorders: a highly specific marker on mantle cell lymphoma. Blood 1994; 84:2726-2732.

CAPÍTULO 26

Linfomas extraganglionares primarios

A. Salar, J. Sans-Sabrafen y C. Besses

ÍNDICE

Definición y frecuencia
Tipos histológicos. Linfomas MALT
Características generales de los linfomas extraganglionares primarios
Clínica y terapéutica de diversas localizaciones y variedades
Linfomas gástricos primarios
Linfomas intestinales primarios
Linfomas primarios del anillo linfático de Waldeyer
Linfomas primarios de glándulas salivales
Linfomas primarios de la cavidad nasal y de los senos paranasales
Linfomas primarios de tiroides
Linfomas primarios de la órbita
Linfomas cerebrales primarios
Localizaciones infrecuentes de los linfomas cerebrales primarios
Linfomas extradurales primarios
Linfomas pulmonares primarios
Linfomas primarios de hueso
Linfomas primarios de mama
Linfomas primarios de testículo
Otros linfomas del tracto urinario y genital
Linfomas de mediastino
Linfomas primarios esplénicos
Linfomas primarios cutáneos
Otros linfomas primarios extraganglionares
Bibliografía

DEFINICIÓN Y FRECUENCIA

El término *linfomas extraganglionares primarios* (LEP) se refiere a las neoplasias linfoides que se originan en estructuras extraganglionares. A primera vista, esta definición parece muy clara y sin necesidad de matizaciones adicionales, pero como en su historia natural los LEP se extienden a los ganglios y, por otra parte, los linfomas ganglionares pueden afectar a tejidos extraganglionares, a veces se hace difícil precisar si el origen primitivo se produjo en los ganglios o de forma extraganglionar. Además, tradicionalmente ha existido cierta tendencia a adscribir algunos linfomas nacidos en estructuras extraganglionares ricas en tejido linfoide (como el bazo o el anillo linfático de Waldeyer) dentro de los linfomas ganglionares, a diferencia de otros linfomas originados en órganos ricos en tejido linfoide, que son incluidos en los extraganglionares. Así, Isaacson[1] postula que cualquier linfoma que se presente en una zona extraganglionar con la lógica y fácil participación de los grupos ganglionares vecinos, debe incluirse, por definición, entre los LEP. De otra manera, y siguiendo un criterio de origen muy estricto, sólo se aceptarían los LEP en estadio limitado y con mejor pronóstico, y se excluirían entonces los LEP en estadio más avanzado y ya diseminados. Por todo ello, en la práctica clínica se debe considerar que un linfoma tiene origen extraganglionar, cuando después de los procedimientos de estadificación, la principal afectación tumoral reside en un territorio extraganglionar y la afectación ganglionar es nula o bien es secundaria, dentro de un contexto clínico dominado principalmente por la sintomatología extraganglionar[2].

Isaacson[1] argumenta que la distinción entre linfomas ganglionares y extraganglionares no obedece simplemente a razones anatómicas. Se observan diferencias biológicas esenciales entre los linfomas ganglionares y los extraganglionares, sugeridas por la tendencia a la localización extraganglionar de los linfomas asociados a inmunodeficiencias y por la rareza del linfoma de Hodgkin fuera del tejido propiamente ganglionar. En los próximos años, con el uso de la tecnología de expresión génica se podrán estudiar con mayor rigor las diferencias entre los linfomas ganglionares y los extraganglionares[3].

La incidencia de los LEP en conjunto varía considerablemente. Así, su frecuencia oscila entre el 24 y el 50% del total de LNH en los estudios poblacionales de países occidentales[1,2,4-10]. Sin embargo, aunque con menor certeza, parece que la incidencia en los países orientales y en vías de desarrollo puede ser algo mayor. Las tasas de incidencia de los LEP han aumentado más rápidamente que las de los linfomas ganglionares durante el período de 1974 a 1988, con incrementos raza y sexo, específicos del 3 al 6,9% para la enfermedad extraganglionar, y del 1,7 al 2,5% para la enfermedad ganglionar. Aparte de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), hay otros factores predisponentes que pueden haber contribuido a este aumento en la incidencia, como los tratamientos inmunosupresores, el trasplante de órganos y el empleo de pesticidas o disolventes, entre otros. Otros factores que también se deben de tener en cuenta son el mayor interés por estas patologías, así como las mejoras de las técnicas diagnósticas anatomopatológicas y de imagen, circunstancias particularmente aplicables a los linfomas del SNC y gastrointestinales.

Los LNH pueden aparecer en cualquier parte del organismo, independientemente de que presente o no tejido linfoide primitivo[1,2,4-10]. La frecuencia de los diferentes sitios de origen de los LEP es también muy variable. Por una parte, todas las series coinciden que los LEP más frecuentes son los gastrointestinales, pero el porcentaje de distribución de otros linfomas extraganglionares es variable, y puede reflejar tanto variaciones regionales de los linfomas, diferencias en los patrones de referencia de hospitales o bien sesgos de muestreo. Sin embargo, hay acuerdo en que los LEP que siguen en frecuencia son los linfomas cutáneos y del anillo de Waldeyer. La tabla 26.1 expone las localizaciones de los LEP por orden de frecuencia.

TABLA 26.1

Localizaciones más frecuentes de los LEP por orden decreciente de incidencia

1. Tracto gastrointestinal
2. Piel
3. Anillo de Waldeyer
4. Glándulas salivales
5. Timo
6. Anejos oculares
7. Tiroides
8. Pulmón
9. Testículo

Tomada de la referencia bibliográfica 1.

TIPOS HISTOLÓGICOS. LINFOMAS MALT

La clasificación de la OMS[11], actualización de la clasificación REAL[12], es el sistema para la tipificación anatomopatológica de los LNH en el momento actual, y por tanto aplicable a los LEP en particular. En esta clasificación se integran los avances en el diagnóstico morfológico, inmunológico, citogenético, de biología molecular y clínico. De esta manera, se identifican una serie de entidades que no habían sido reconocidas en las clasificaciones previas. Se reconocen varios LEP de manera claramente individualizada, y varios son considerados como procesos con entidad propia, como el linfoma intestinal T asociado a enteropatía, el linfoma T/NK tipo nasal, el linfoma hepatoesplénico de célula T, etc. Así, se superan algunas dificultades planteadas con otras clasificaciones que habían sido desarrolladas exclusivamente para linfomas de origen ganglionar. Por otra parte, dentro de los LEP (que son la mayoría de fenotipo B en nuestro medio), podemos observar histologías que son iguales a su contrapartida ganglionar, como los linfomas difusos de células grandes B, linfomas foliculares, linfomas del manto, entre otros, pero que ocasionalmente presentan algunas peculiaridades.

Los linfomas MALT merecen una atención especial en este capítulo[13-17]. Se trata de linfomas generalmente indolentes que se originan en la zona o área marginal alrededor de los folículos reactivos, formados por células linfoides de tamaño pequeño o mediano, de apariencia similar a centrocitos y también con morfología monocitoide. Típicamente, cursan con las llamadas lesiones linfoepiteliales, que resultan de la infiltración glandular por las células linfoides, aunque no son absolutamente específicas (fig. 26.1). Inmunofenotípicamente son CD20 positivas pero CD23, CD5 y CD10 negativas, características que las diferencia, generalmente, de las células de los linfomas de linfocito pequeño tipo leucemia linfática crónica, linfomas del manto y linfomas foliculares. Los linfomas MALT no muestran reordenamiento del gen *bcl-2* con el gen de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas [t(14;18)(q32;q21)] ni la translocación t(11;14)(q13;q32), características de los linfomas foliculares y del manto, respectivamente[18,19]. En cambio, presentan expresión a la proteína bcl-2[20,21] determinada mediante inmunohistoquímica, en la gran mayoría de los casos. La t(11;18)(q21;q21) es la alteración estructural más frecuente en los linfomas MALT, y se observa en aproximadamente el 40%[22-24]. Se reordena el gen antiapoptótico *API2* con el gen *MALT1*, hecho que puede desempeñar un papel fundamental en la oncogénesis de estos linfomas. La presencia de una trisomía 3 se observa en el 20-60%[25] de los casos, y es la alteración genética numérica más frecuente. Recientemente, se ha descrito una nueva translocación en estos linfomas, t(14;18)(q32;q21)[26], que reordena el gen *MALT1* con el gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (nótese la diferencia de reordenamiento de genes con la del linfoma folicular).

Los linfomas MALT afectan principalmente al estómago, intestino, piel, pulmón, glándulas salivales, tiroides, conjunti-

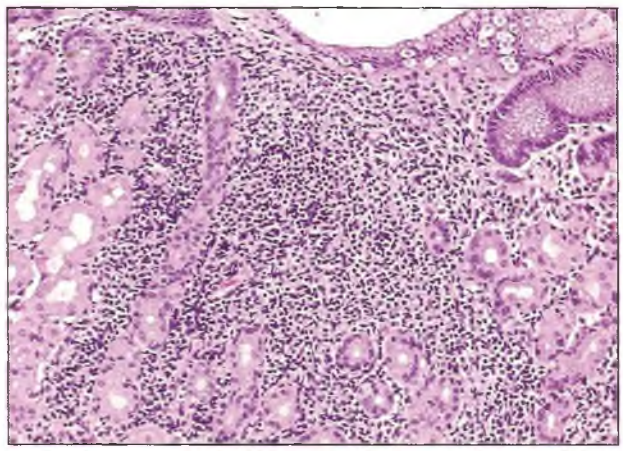


Figura 26.1. Linfoma marginal gástrico. Infiltración linfoide y lesiones linfoepiteliales características.

va, glándulas lagrimales y mama, aunque se han descrito en otros territorios, como laringe, nasofaringe, tráquea, vesícula biliar, epidídimo y trompa de Falopio, entre otros. Se trata de linfomas provenientes del territorio MALT intestinal o de territorios que, carentes de tejido linfoide en estado normal, tras un estímulo infeccioso o autoinmune han adquirido tejido linfoide MALT. Los linfomas MALT presentan un curso clínico indolente, pero en su historia natural pueden transformarse en un linfoma de células grandes. Actualmente, se desaconseja la terminología de «linfoma MALT de alto grado» cuando se observan áreas de células grandes en un linfoma MALT o cuando en un linfoma de células grandes se observan áreas de MALT. En estos dos últimos supuestos, la clasificación recomendable es la de linfoma difuso de células grandes B, a la que se puede añadir la información de transformado de o con áreas de linfoma MALT[11].

Los linfomas MALT suelen estar asociados a una estimulación crónica previa del sistema inmunitario. Así, es clásico el trabajo pionero de Isaacson en la identificación de la bacteria *Helicobacter pylori*, y posteriormente de *H. heilmannii*, en los MALT gástricos[27,28]. Otra asociación reconocida es la infección por *Borrelia burgdorferi* en MALT cutáneos[29], y recientemente se ha identificado *Clamydia psittaci* en MALT ocular[30]. Aparte de agentes infecciosos, varias condiciones autoinmunes se han asociado al desarrollo de linfomas de tipo MALT. Se ha demostrado una alta incidencia de desarrollo de MALT en el tiroides y en las glándulas salivales en pacientes con tiroiditis autoinmune y con síndrome de Sjögren, respectivamente, con un aumento del riesgo relativo de 70 y 40 veces, respectivamente (tabla 26.2).

Los linfomas MALT, tanto los gástricos como los de origen no gástrico, siguen un curso clínico indolente. La supervivencia global es similar en los gástricos y los no gástricos, pero la supervivencia libre de progresión es más corta en los no gástricos (4,9 frente a 8,9 años). Además, a diferencia de otros linfomas indolentes, muchos linfomas MALT pueden conseguir verdaderas curaciones. Inicialmente, se creía que los linfomas MALT tenían una marcada tendencia a permanecer localizados, a través del fenómeno de «retorno al hogar» o *homing*. Sin embargo, actualmente está reconocida una afectación más diseminada al diagnóstico de estos linfomas. Así, existe afectación multiorgánica en el 30% de los MALT gástricos, y de hasta el 50% en linfomas MALT no gástricos[31,32]. Por este motivo, se propugna que en todos los pacientes con linfoma MALT se debería proceder a un estudio de extensión más exhaustivo (incluir estudios de imagen de glándulas salivales y lagrimales, estudio de ORL, fibrogastroscopia y colonoscopia con múltiples biopsias)[33].

TABLA 26.2

Patología condicionante en los linfomas extraganglionares primarios

Infecciones
Helicobacter pylori en el linfoma gástrico
Borrelia burgdorferi en el linfoma cutáneo
Clamydia psittaci en el linfoma ocular
Bacterianas (*Campilobacter jejuni*) y parasitarias diversas en la enfermedad inmunoproliferativa del intestino delgado
VIH en linfomas cerebrales, pulmonares y de las cavidades serosas
VEB en linfomas T, linfoma de Burkitt y en linfomas cerebrales de pacientes inmunocomprometidos
Patologías autoinmunes
Síndrome de Sjögren en linfomas de glándulas salivales y de pulmón
Tiroiditis de Hashimoto en linfomas de tiroides
Lupus y artritis reumatoide en linfomas cerebrales
Trasplante alogénico en linfomas cerebrales y pulmonares
Mastopatía linfocítica o lobulitis linfocítica esclerosante en linfomas de mama

VIH: virus de la inmunodeficiencia humana; VEB: virus de Epstein-Barr.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS LINFOMAS EXTRAGANGLIONARES PRIMARIOS

Las características clínicas y evolutivas de los LEP son muy variables, ya que dependen de la gran diversidad de localizaciones y de la variedad de patogenias que inciden en su desarrollo[1,2,4-10]. La distribución por edad y sexo es muy similar a la de los linfomas ganglionares. Se presentan con mayor frecuencia en estadios localizados, y las histologías más comunes son las agresivas, principalmente los linfomas de células grandes B. Entre los linfomas indolentes, los MALT son los más frecuentemente descritos.

Los LEP pueden aparecer en cualquier parte del organismo. De esta forma, los signos y síntomas en la presentación dependen ampliamente de la localización del tumor. Es menos frecuente la presencia de síntomas B respecto a los LNH ganglionares. Es importante investigar acerca de la presencia de un estímulo previo autoinmune o infeccioso, ya que es un rasgo muy frecuente y ciertamente importante.

Ha existido controversia en cuanto al pronóstico de los LEP con respecto a los ganglionares con un estadio similar en la presentación. Según parece, en general no hay diferencias globales relevantes, pero es necesario hacer una distinción en función de la localización primaria del linfoma y también de la histología. Los linfomas primarios del SNC o de testículo tienen una evolución significativamente peor que sus homólogos ganglionares en estadio localizado, mientras que la evolución de muchos subtipos de linfomas cutáneos es mucho más favorable, y no comparable mediante únicamente el estadio clínico.

Por último, los principios del tratamiento para los linfomas ganglionares son aplicables a la mayoría de LEP[34-38], incluso sus índices pronósticos[39]. Así, inicialmente hay que decidir con respecto a la actitud a realizar, que en la mayoría de los casos será con intención curativa. La decisión entre un tratamiento local frente a uno sistémico depende del tipo histológico y de las características del tumor, incluyendo origen primario, extensión y factores pronósticos. La cirugía desempeña un papel relevante en el diagnóstico, pero actualmente su papel terapéutico está en desuso. De esta manera, se desaconseja la cirugía radical, como gastrectomías en linfomas MALT gástricos, neumonectomías en MALT pulmonar, mastectomías en linfomas de mama, etc. Sin embargo, en casos específicos la cirugía puede ser beneficiosa, como, por ejemplo, en linfomas MALT de glándulas salivales, en los cuales la exéresis diagnóstica de la glándula puede ser curativa. La radioterapia, sola o en combinación, es un tratamiento local eficaz, y permite en

TABLA 26.3

Sistemas de estadiaje de los linfomas gastricos

	Sistema Lugano		Sistema TNM adaptado	Sistema Ann Arbor
Estadio I	Localizado en tracto GI	T1 N0 M0	Mucosa, submucosa	IE
		T2 N0 M0	Muscularis propia	IE
		T3 N0 M0	Serosa	IE
Estadio II	Extensión abdominal			
II1	Afectación ganglionar local	T1-3 N1 M0	Ganglios perigástricos	IIE
II2	Afectación ganglionar a distancia	T1-3 N2 M0	Ganglios regionales más distantes	IIE
Estadio IIE	Afectación de órganos/tejidos adyacentes a través de la serosa	T4 N0 M0	Invasión de estructuras adyacentes	IE
Estadio IV	Afectación extraganglionar diseminada o ganglionar supradiafragmática	T1-4 N3 M0 T1-4 N0-3 M1	Afectación ganglionar a ambos lados del diafragma o metástasis a distancia	IIIE IVE

exponen los diversos estadios anatomoclínicos de estos tumores y sus correspondencias, válidos también para las restantes localizaciones del tubo digestivo[47,48].

La cirugía ha desempeñado un papel principal en el tratamiento clásico de los linfomas gástricos, tanto en los indolentes como en los agresivos[49,50]. Sin embargo, debido a la considerable morbilidad y mortalidad asociada intrínsecamente a la cirugía gástrica radical, a la confirmación del escaso número de complicaciones hemorrágicas o de perforación con otras terapias (tratamiento erradicador, quimioterapia o radioterapia) y al mejor conocimiento actual del comportamiento de los linfomas MALT gástricos, las posibilidades terapéuticas son más amplias[51]. En este punto habría que destacar que, inicialmente, se creía que los linfomas MALT gástricos eran procesos localizados y, por tanto, candidatos a tratamiento prioritariamente local. Sin embargo, actualmente se conoce que estos linfomas están diseminados en un tercio de los casos al diagnóstico (tanto en otras localizaciones del tracto intestinal como en ganglios, bazo y médula ósea) y que incluso la afectación del estómago es también multifocal hasta en un tercio de casos, como se ha referido anteriormente. Por tanto, la estrategia terapéutica debe ser más sistémica que en el pasado, y con la intención de conservar el estómago. A este hecho se añade que, debido a la clínica inespecífica, en nuestros días la mayoría de linfomas MALT gástricos se diagnostican mediante endoscopia (81% con una biopsia, 92% con > 1 biopsia).

Hace una década se describió que el tratamiento frente a *H. pylori* consigue la erradicación del bacilo y, posteriormente, la curación del linfoma[28,52,53]. Así, series prospectivas que han incluido gran número de pacientes han confirmado este hallazgo. Mediante tratamiento combinado con antibióticos e inhibidores de la bomba de protones o bismuto se obtiene la erradicación de *H. pylori* en el 90-95% de casos, y se logran remisiones histológicas completas en el 55-95% de casos, con una media de tiempo para la desaparición morfológica del linfoma de 2 a 6 meses, aunque se considera que el tiempo de expectación razonable para la confirmación de la remisión es de hasta 12-18 meses. Se han descrito varios factores adversos asociados con la respuesta del linfoma con tratamiento erradicador, y se describen en la tabla 26.4. Se

TABLA 26.4

Factores adversos relacionados con la respuesta al tratamiento erradicador

- Grado histológico
- Índice proliferativo
- Ganglios perigástricos
- Infiltración de las capas profundas
- Grosor de la pared gástrica > 5 mm
- Profundidad de invasión tumoral determinada por ecoendoscopia
- t(1;14) y t(11;18)
- Expresión nuclear de bcl-10
- Ausencia de infección por *H. pylori*
- Enfermedad autoinmune asociada

puede detectar la enfermedad mediante técnicas de biología molecular en el 33-71% de las remisiones completas, aunque no parece que este hecho se asocie con un aumento de las recaídas. En los pacientes que no tengan infección por *H. pylori*, presenten factores pronósticos adversos para la respuesta al tratamiento erradicador o bien recaigan tras éste, las opciones de tratamiento residen en la quimioterapia o en la radioterapia. Los citostáticos más utilizados han sido los agentes alquilantes en monoterapia (clorambucilo o ciclofosfamida) o bien esquemas combinados (CVP, CHOP, etc.) en pacientes con enfermedad voluminosa o con otros factores pronósticos adversos. Recientemente, se están empleando regímenes con análogos de las purinas (fludarabina o cladribina) y con anticuerpos monoclonales, aunque el papel definitivo de los mismos está por determinar con exactitud.

La radioterapia gástrica y de ganglios perigástricos en dosis de 30-46 Gy ha conseguido resultados excelentes en varias series de grupos muy experimentados con esta técnica, y consigue una respuesta completa del 95-100% y una supervivencia libre de enfermedad del 85-95% a los 3-5 años[54].

Los *linfomas gástricos agresivos de células B* se denominan actualmente según la clasificación de la OMS como linfomas

TABLA 26.3

Sistemas de estadiaje de los linfomas gastricos

	Sistema Lugano		Sistema TNM adaptado	Sistema Ann Arbor
Estadio I	Localizado en tracto GI	T1 N0 M0	Mucosa, submucosa	IE
		T2 N0 M0	Muscularis propia	IE
		T3 N0 M0	Serosa	IE
Estadio II	Extensión abdominal			
II1	Afectación ganglionar local	T1-3 N1 M0	Ganglios perigástricos	IIE
II2	Afectación ganglionar a distancia	T1-3 N2 M0	Ganglios regionales más distantes	IIE
Estadio IIE	Afectación de órganos/tejidos adyacentes a través de la serosa	T4 N0 M0	Invasión de estructuras adyacentes	IE
Estadio IV	Afectación extraganglionar diseminada o ganglionar supradiafragmática	T1-4 N3 M0 T1-4 N0-3 M1	Afectación ganglionar a ambos lados del diafragma o metástasis a distancia	IIIE IVE

exponen los diversos estadios anatomoclínicos de estos tumores y sus correspondencias, válidos también para las restantes localizaciones del tubo digestivo[47,48].

La cirugía ha desempeñado un papel principal en el tratamiento clásico de los linfomas gástricos, tanto en los indolentes como en los agresivos[49,50]. Sin embargo, debido a la considerable morbilidad y mortalidad asociada intrínsecamente a la cirugía gástrica radical, a la confirmación del escaso número de complicaciones hemorrágicas o de perforación con otras terapias (tratamiento erradicador, quimioterapia o radioterapia) y al mejor conocimiento actual del comportamiento de los linfomas MALT gástricos, las posibilidades terapéuticas son más amplias[51]. En este punto habría que destacar que, inicialmente, se creía que los linfomas MALT gástricos eran procesos localizados y, por tanto, candidatos a tratamiento prioritariamente local. Sin embargo, actualmente se conoce que estos linfomas están diseminados en un tercio de los casos al diagnóstico (tanto en otras localizaciones del tracto intestinal como en ganglios, bazo y médula ósea) y que incluso la afectación del estómago es también multifocal hasta en un tercio de casos, como se ha referido anteriormente. Por tanto, la estrategia terapéutica debe ser más sistémica que en el pasado, y con la intención de conservar el estómago. A este hecho se añade que, debido a la clínica inespecífica, en nuestros días la mayoría de linfomas MALT gástricos se diagnostican mediante endoscopia (81% con una biopsia, 92% con > 1 biopsia).

Hace una década se describió que el tratamiento frente a *H. pylori* consigue la erradicación del bacilo y, posteriormente, la curación del linfoma[28,52,53]. Así, series prospectivas que han incluido gran número de pacientes han confirmado este hallazgo. Mediante tratamiento combinado con antibióticos e inhibidores de la bomba de protones o bismuto se obtiene la erradicación de *H. pylori* en el 90-95% de casos, y se logran remisiones histológicas completas en el 55-95% de casos, con una media de tiempo para la desaparición morfológica del linfoma de 2 a 6 meses, aunque se considera que el tiempo de expectación razonable para la confirmación de la remisión es de hasta 12-18 meses. Se han descrito varios factores adversos asociados con la respuesta del linfoma con tratamiento erradicador, y se describen en la tabla 26.4. Se

TABLA 26.4

Factores adversos relacionados con la respuesta al tratamiento erradicador

- Grado histológico
- Índice proliferativo
- Ganglios perigástricos
- Infiltración de las capas profundas
- Grosor de la pared gástrica > 5 mm
- Profundidad de invasión tumoral determinada por ecoendoscopia
- t(1;14) y t(11;18)
- Expresión nuclear de bcl-10
- Ausencia de infección por *H. pylori*
- Enfermedad autoinmune asociada

puede detectar la enfermedad mediante técnicas de biología molecular en el 33-71% de las remisiones completas, aunque no parece que este hecho se asocie con un aumento de las recaídas. En los pacientes que no tengan infección por *H. pylori*, presenten factores pronósticos adversos para la respuesta al tratamiento erradicador o bien recaigan tras éste, las opciones de tratamiento residen en la quimioterapia o en la radioterapia. Los citostáticos más utilizados han sido los agentes alquilantes en monoterapia (clorambucilo o ciclofosfamida) o bien esquemas combinados (CVP, CHOP, etc.) en pacientes con enfermedad voluminosa o con otros factores pronósticos adversos. Recientemente, se están empleando regímenes con análogos de las purinas (fludarabina o cladribina) y con anticuerpos monoclonales, aunque el papel definitivo de los mismos está por determinar con exactitud.

La radioterapia gástrica y de ganglios perigástricos en dosis de 30-46 Gy ha conseguido resultados excelentes en varias series de grupos muy experimentados con esta técnica, y consigue una respuesta completa del 95-100% y una supervivencia libre de enfermedad del 85-95% a los 3-5 años[54].

Los *linfomas gástricos agresivos de células B* se denominan actualmente según la clasificación de la OMS como linfomas

difusos de células grandes B con o sin áreas de MALT (corresponden a las denominaciones previas de linfoma MALT de alto grado con componente de bajo grado y linfoma MALT de alto grado sin componente de bajo grado, respectivamente, aunque insistimos en que esta última terminología se desaconseja en el momento actual). Constituyen el 50-60% de los linfomas gástricos, de los cuales algo más de un tercio son *de novo* y el resto representan la transformación histológica de un linfoma MALT. Se presentan especialmente en pacientes adultos, con pico de máxima incidencia entre 55 y 60 años y predominio en el sexo femenino. La clínica inicial es inespecífica, aunque con un comportamiento más agresivo; destaca una mayor pérdida de peso, presencia de más adenopatías locorregionales, masas tumorales e infiltración de vísceras cercanas, presentación en estadios avanzados y mayor elevación de la LDH[55,56].

Clásicamente, el tratamiento ha sido quirúrgico. La cirugía se realizaba para confirmar el diagnóstico, para establecer una estadificación adecuada y para reducir la masa tumoral. Actualmente, dado que muchos de los diagnósticos se realizan mediante endoscopia y debido a una mayor eficacia de las pruebas de imagen (TC, RM, ecoendoscopia), la cirugía no está indicada en la mayoría de pacientes. Sin embargo, la resección gástrica confiere una supervivencia del 70-75% y del 40-50% a los 5 años en los estadios I y II, respectivamente[57,58]. Aunque la importancia pronóstica de una gastrectomía total frente a una subtotal ha estado en controversia, los estudios más recientes favorecen el tratamiento más radical. La causa más frecuente de fallo tras la cirugía es la progresión sistémica. Así, se ha realizado tratamiento adyuvante con radioterapia o con quimioterapia, pero con resultados dispares y no concluyentes. En la actualidad, el tratamiento de los linfomas gástricos agresivos localizados se basa en la experiencia adquirida en el tratamiento de los linfomas de origen ganglionar agresivos localizados. Se ha confirmado que existe bajo riesgo de perforación o de hemorragia, y este riesgo se produciría entre los 7 y 14 días tras el inicio de la quimioterapia. La quimioterapia debe incluir antraciclinas (CHOP o similares), y el papel de los anticuerpos monoclonales (rituximab) no está bien definido, aunque probablemente sea beneficioso. Así, tanto esquemas de quimioterapia sola (entre 6 y 8 ciclos) como combinados de quimiorradioterapia (entre 3 y 8 ciclos de quimioterapia más radioterapia gástrica, 30-40 Gy) consiguen supervivencias libres de enfermedad de más del 85%, y del 75% a los 5 años, en estadios I y II, respectivamente. A falta de estudios aleatorizados, no se puede concluir cuál de estas opciones es mejor[59-64]. Al igual que en los linfomas ganglionares, se ha adaptado el Índice Pronóstico Internacional para los linfomas gástricos agresivos (tabla 26.5)[64].

Muy recientemente, se ha comunicado la remisión completa en linfomas difusos de células grandes B con áreas de MALT en estadios IE e infección por *H. pylori*, tras la administración de tratamiento erradicador. Sin embargo, esta actitud terapéutica no debe realizarse fuera del contexto de un ensayo clínico. Por otra parte, dado que la mayoría de los casos de linfoma difuso de células grandes B gástricos representan una transformación de un linfoma MALT, y por tanto están estrechamente asociados a infección por *H. pylori*, algunos autores recomiendan asociar al tratamiento citostático el tratamiento erradicador, aunque no sean visibles focos de linfoma MALT.

TABLA 26.5

Índice Pronóstico Internacional Modificado

Factores clínicos adversos a la presentación, asociados de forma independiente con la supervivencia:

- Edad > 60 años
- LDH sérica > 1 valor normal
- Performance status 2-4
- Estadio Lugano ≥ II2
- Afectación extraganglionar > 1 localización, excluyendo el estómago

Tomado de la referencia 64.

Así, en nuestra práctica clínica diaria adoptamos las siguientes actitudes terapéuticas, si bien, dada la ausencia de estudios aleatorizados, otros tratamientos son totalmente válidos: *a*) en linfomas marginales localizados en estadio I asociados a *H. pylori*, tratamiento erradicador triple; *b*) en linfomas marginales localizados en estadio > I asociados a *H. pylori*; tratamiento erradicador triple y monoquimioterapia (fludarabina endovenosa u oral o clorambucilo, en función de la edad); *c*) en linfomas marginales no asociados a *H. pylori* o recaídos/refractarios a tratamiento erradicador, monoquimioterapia (fludarabina endovenosa u oral o clorambucilo, en función de la edad); *d*) en linfomas de células grandes B CD20 positivos localizados y sin factores pronósticos adversos, poliquimioterapia con 3 ciclos de R-CHOP y, posteriormente, con radioterapia del campo afectado (36 Gy); *e*) en linfomas de células grandes B CD20 positivos localizados con factores pronósticos adversos, poliquimioterapia con 6 u 8 ciclos de R-CHOP, y *f*) en linfomas de células grandes B CD20 positivos diseminados, poliquimioterapia con 6 u 8 ciclos de R-CHOP, y en función de la presencia de factores adversos valoramos individualizadamente un tratamiento de intensificación con autotrasplante.

Linfomas intestinales primarios

Son poco frecuentes y cabe separarlos en varias categorías distintivas, según la clasificación de la OMS[1,2,4-10,65].

Los *linfomas de Burkitt* o *de tipo Burkitt* en su variante endémica raramente afectan al tracto gastrointestinal, mientras que el esporádico tiene predilección por la válvula ileocecal y el recto, donde a menudo se presenta en forma de masa tumoral con o sin ulceración. Clínicamente, son muy agresivos, originan síndrome tóxico y dolor abdominal, y se presentan generalmente como una urgencia médica con abdomen agudo y clínica de perforación o de obstrucción. En general, no pueden resecarse completamente, y la poliquimioterapia suele ser su tratamiento de elección. El tratamiento debe ser aplicado con las medidas preventivas del síndrome de lisis tumoral, y la quimioterapia debe basarse en regímenes muy intensivos, como se referirá en el Capítulo 27.

La afectación del tracto gastrointestinal por el *linfoma del manto* fue descrita hace años como poliposis linfomatosa[66] (masas polipoides que protruyen en la luz del tubo digestivo), aunque la presencia de pólipos puede verse en otras histologías. Puede afectarse cualquier zona del tracto gastrointestinal, y los síntomas dependen del área o áreas afectadas. Se disemi-

na a los ganglios abdominales, hígado, bazo y médula ósea, con un curso agresivo y de mal pronóstico. Recientemente, se ha descrito que la afectación del tracto gastrointestinal puede evidenciarse en estadios precoces de la enfermedad y en zonas endoscópicamente normales. La distribución peculiar de estas localizaciones puede estar relacionada con la expresión de una integrina α4β7, la cual es un receptor de *homing* de la mucosa que media la migración linfocitaria a la mucosa intestinal. Las características histológicas, de inmunohistoquímica y genéticas son iguales que en el linfoma del manto ganglionar, y se debe adoptar la misma actitud terapéutica.

El *linfoma folicular gastrointestinal primario* constituye menos del 7% de los linfomas gastrointestinales primarios[67]. Se presenta con mayor frecuencia en mujeres, en forma de lesiones unifocales, principalmente en el intestino delgado, y la mayoría son estadios localizados. Presentan histología e inmunofenotipo igual que su contrapartida ganglionar, y es muy frecuente el punto de rotura en la región MBR del gen *bcl-2*.

La *enfermedad inmunoproliferativa del intestino delgado*[68], linfoma mediterráneo o enfermedad de las cadenas pesadas alfa, es un linfoma MALT caracterizado por la infiltración de la pared del tracto gastrointestinal, principalmente el intestino delgado, por una población de linfocitos pequeños y células plasmáticas que secretan una cadena pesada de inmunoglobulinas, alterada por la pérdida de su asociación a la cadena ligera. La enfermedad puede causar un amplio espectro morfológico, que varía de una aparente infiltración linfoide benigna hasta un linfoma de células grandes. Se localiza preferentemente en áreas del Mediterráneo, Oriente Medio y del Norte de África. La presentan niños y adultos jóvenes, con discreto predominio masculino, y se manifiesta con anorexia, dolor abdominal y diarreas secundarias a malabsorción y a enteropatía pierde-proteínas. La electroforesis de las proteínas es normal, o se detecta hipogammaglobulinemia. Se requiere un anticuerpo anti-IgA específico para detectar la IgA aberrante mediante inmunofijación. La distribución geográfica restringida originó la hipótesis de que los factores ambientales pudieran desempeñar un papel patogénico. Recientemente, se ha identificado la presencia de *Campilobacter jenuni* mediante inmunohistoquímica, PCR y FISH[69]. Así, la enfermedad en estadio precoz responde a la administración de antibióticos. Sin embargo, cuando existe transformación a un linfoma de células grandes, la enfermedad tiene un curso muy agresivo. Sólo una cuarta parte de los pacientes sobrevive a los 5 años, y casi la mitad de ellos fallece durante el primer año. En esta situación, deben emplearse regímenes de poliquimioterapia que incluyan antraciclinas, al igual que en los linfomas agresivos ganglionares, junto a tratamiento dietético y antibioterapia con tetraciclinas.

Los *linfomas difusos de células grandes B* intestinales primarios son muy infrecuentes[70], y pueden afectar cualquier parte del tracto intestinal (desde el duodeno hasta el recto). Algunos de ellos representan la transformación histológica de un linfoma MALT. La cirugía tiene sólo un papel en el diagnóstico, y el tratamiento consiste en poliquimioterapia que incluye antraciclinas.

El *linfoma T intestinal de tipo enteropático*, según la clasificación de la OMS, es una entidad clinicopatológica mucho menos frecuente que los linfomas gastrointestinales de célula B[71,72]. La mayoría de los casos se producen en el contexto de enfermedad celíaca, aunque en algunos pacientes se detecta simultáneamente e incluso la precede. Se presenta en adultos jóvenes, con discreto predominio de mujeres. La afectación más frecuente es en el yeyuno y el íleon, solo o en combinaciones con otras localizaciones del tracto digestivo. La presentación en el estómago, colon o duodeno se ha descrito, pero es rara. El diagnóstico de linfoma en un paciente que ya es portador de enfermedad celíaca es difícil, y a menudo sólo puede sospecharse a través del deterioro no justificado de un paciente cumplidor de la dieta. Los síntomas más frecuentes son dolor abdominal (a menudo asociado a perforación y con menor frecuencia por una obstrucción), pérdida de peso, diarrea y vómitos. Es muy infrecuente la presencia de adenopatías, así como de otra afectación extraganglionar. La médula ósea está infiltrada en menos del 10% de los casos. El tratamiento con quimioterapia con antraciclinas (CHOP y similares) alcanza respuestas en cerca de la mitad de los casos. Sin embargo, la mitad de los pacientes no alcanzan el programa previsto de tratamiento, debido principalmente a complicaciones como sangrado, perforación, fístulas o malabsorción incontrolable. La supervivencia media es de 7,5 meses, y menos del 20% sobreviven más de un año.

Linfomas primarios del anillo linfático de Waldeyer

Ocupan el segundo lugar de incidencia, a continuación de los linfomas gastrointestinales, y vienen a representar entre la tercera y la cuarta parte de todos los linfomas extraganglionares, y hasta el 5-10% del total de LNH[1,2,4-10,73]. Las localizaciones, por orden de frecuencia, son: amígdala, nasofaringe, base de la lengua y paladar blando. Histológicamente, suelen ser linfomas difusos de células grandes, y la mayoría tienen un inmunofenotipo B. A pesar de estar ubicados en territorio mucoso, menos del 5% son de tipo MALT. Se presentan con enfermedad localizada en tres cuartas partes de los casos y a partir de los 50 años, y son especialmente frecuentes entre los 60 y 70 años. Clínicamente, se presentan con una masa amigdalar y/o una adenopatía cervical, dolor de garganta o síntomas de ocupación del *cavum*, indistinguible de un cáncer epitelial. En el 20-35% de los casos cursan con afectación del tracto gastrointestinal, principalmente del estómago, por lo que se recomienda la práctica sistemática de endoscopia gástrica. Cuando la histología es indolente, la radioterapia ha sido el tratamiento de elección para los casos con enfermedad localizada, mientras que si existe enfermedad diseminada está indicado el tratamiento con monoquimioterapia (agentes alquilantes o análogos de las purinas) o poliquimioterapia (CVP). Sin embargo, cuando la histología es agresiva, la radioterapia sola tiene una alta tasa de recidivas, por lo que se debe de realizar tratamiento sistémico. El tratamiento combinado con CHOP y la adición posterior de radioterapia del campo afectado ha demostrado una mejor supervivencia libre de enfermedad y global (58 y 90% a los 5 años, respectivamente).

Linfomas primarios de glándulas salivales

Representan menos del 1% del total de LNH[1,2,4-10,74]. Se presentan entre los 50 y 80 años, con un predominio en mujeres. En el 80% de casos se localizan en la parótida. La ubicación en la glándula submaxilar sigue en orden de frecuencia, y a veces pueden afectar simultáneamente a las dos glándulas.

Están asociados a pacientes con síndrome de Sjögren, sialoadenitis mioepitelial, artritis reumatoide y lupus.

La histología más frecuente es indolente (55-75%), generalmente LNH de tipo MALT aunque están descritos LNH foliculares. El resto suelen ser linfomas difusos de células grandes B. Constituyen un ejemplo típico de linfoma MALT, ya que las glándulas salivales están desprovistas normalmente de tejido linfoide y, debido a un proceso autoinmune previo, adquieren tejido MALT, circunstancia que condiciona el desarrollo posterior del linfoma. La mayoría de los casos son localizados (estadios I-II: 75-100%), y presentan síntomas debidos a la aparición de una tumoración en la glándula afectada, generalmente indolora.

En el tratamiento de los linfomas indolentes localizados, la radioterapia del campo afectado proporciona un excelente control de la enfermedad, así como una prolongada supervivencia (supervivencia libre de enfermedad superior al 90% a los 5 años). En los linfomas agresivos localizados, la mayoría de autores recomiendan asociar poliquimioterapia tipo CHOP con radioterapia del campo afectado.

Linfomas primarios de la cavidad nasal y de los senos paranasales

Se presentan, como los del anillo de Waldeyer, más allá de los 50 años[1,2,4-10,75,76]. En los linfomas de cavidad nasal podemos distinguir principalmente dos formas histológicas, con importantes diferencias etiopatogénicas y pronósticas. En primer lugar, la forma occidental, que en la gran mayoría de casos incluye linfomas difusos de células grandes B. En segundo lugar, la asiática, que incluye más a menudo linfomas T con fenómenos de angioinvasión, necrosis y epiteliotropismo, recientemente categorizada según la clasificación de la OMS como linfoma extraganglionar de célula T/NK, de tipo nasal y que están asociadas a infección por el virus de Epstein-Barr (VEB). Mientras la variedad occidental se limita a ocasionar manifestaciones de ocupación de espacio, como obstrucción nasal, tumefacción facial, obstrucción auditiva o secreción nasal hemática, la variedad asiática añade signos destructivos o de erosión ósea, síntomas B y más frecuente extensión a distancia: piel, gastrointestinal, testes, ganglios cervicales, SNC y órbita. En esta última es frecuente la presencia de síndrome hemofagocítico. Respecto a los linfomas de senos paranasales, la histología más frecuente es el linfoma difuso de células grandes B, y la mayoría de casos se presenta en estadios localizados (70-80%). Afectan principalmente a los senos maxilares y etmoidales.

El tratamiento de los linfomas agresivos B en estadios localizados consiste en combinaciones de quimioterapia con antraciclinas (con o sin rituximab) (4-6 ciclos de CHOP o R-CHOP), y posterior adición de radioterapia, y en los diseminados, un tratamiento más prolongado de quimioterapia (6 u 8 ciclos de CHOP o R-CHOP). Como los linfomas paranasales se han asociado clásicamente a un mayor riesgo de recaída en el SNC, muchos autores recomiendan profilaxis neuromeníngea, aunque esta indicación no está bien establecida. Con estos tratamientos se consiguen curaciones en la mayoría de pacientes con enfermedad localizada, aunque la supervivencia es sensiblemente menor en aquellos con enfermedad avanzada. La evolución de los pacientes con linfoma nasal de célula T/NK es desafortunadamente mucho peor. El tratamiento con poliquimioterapia exclusivamente es peor que la radioterapia (hasta 55 Gy) o las combinaciones de quimiorradioterapia. Se obtienen buenas respuestas iniciales en los estadios localizados, pero presentan una alta tasa de recidivas (la mitad locales y una cuarta parte sistémicas). La respuesta inicial en los pacientes con enfermedad avanzada es incluso peor, y también la tasa de recidiva sistémica es muy elevada. La supervivencia, en general, es muy escasa, a excepción de aquellos casos localizados, sin enfermedad voluminosa y sin factores pronósticos adversos.

Linfomas primarios de tiroides

Representan menos del 5% de los tumores de tiroides. Son más frecuentes a partir de los 50 años, y tienen predominio en mujeres[1,2,4-10,77-79]. La histología más frecuente es el linfoma difuso de células grandes B (> 80%), seguida del LNH de tipo MALT. Dado que se observan lesiones linfoepiteliales o existen áreas de MALT en muchos de los linfomas difusos de células grandes B, es probable que estos casos representen la transformación histológica de un linfoma MALT.

La sintomatología es debida al crecimiento rápido del tiroides que origina problemas locales (disfagia, disnea, estridor, edema facial); generalmente es indoloro. Se asocia con pacientes con tiroiditis autoinmune (tiroiditis de Hashimoto). La mayoría de pacientes tienen enfermedad localizada (95%: estadio IE 50%, y IIE 45%), menos del 10% tienen síntomas sistémicos, y menos del 10% tienen signos de hipotiroidismo. Es imprescindible realizar una biopsia para poder efectuar un diagnóstico con precisión. La cirugía debe emplearse sólo con fines diagnósticos. Se debe evitar la cirugía radical, ya que compromete los nervios recurrentes y el tracto respiratorio, y además, el *debulky* quirúrgico no mejora el pronóstico. En ausencia de estudios aleatorizados, en los linfomas de células grandes localizados se recomienda tratamiento con quimioterapia (3-6 ciclos de CHOP) y radioterapia del campo afectado, que consigue un buen control local y sistémico de la enfermedad con una supervivencia libre de enfermedad superior al 75-85% a los 5 años. En los linfomas MALT localizados, el tratamiento con radioterapia consigue una supervivencia libre de recaída y global a los 5 años del 40-65% y del 45-75%, respectivamente, aunque no existe consenso respecto a la dosis, la duración y el campo que se debe irradiar.

Linfomas primarios de la órbita

Los linfomas primarios de la órbita representan sólo el 4% de los linfomas extraganglionares, y deben diferenciarse del linfoma del globo ocular propiamente dicho[1,2,4-10,80]. Suelen observarse en la sexta década de la vida, y se ubican en la conjuntiva, párpados, glándula lagrimal o tejido retrobulbar. No es sencillo diferenciarlos a veces de lesiones linfoides benignas hiperplásicas. En las tres cuartas partes de los casos, se trata de linfomas indolentes, prioritariamente MALT, y sólo una pequeña proporción reviste las características de linfoma agresivo (de células grandes B, Burkitt, T-periférico). La mayoría de pacientes se presenta en estadios localizados, aunque en el 15% de los casos hay bilateralidad, que no supone peor pronóstico. En un tercio de los pacientes se detecta inmunoglobulina monoclonal sérica. Recientemente, se ha demostrado el papel patogénico de *Chlamydia psittaci* en el desarrollo de los MALT oculares, mediante detección por PCR (87,5% de positividad), y 2 de 4 pacientes han mostrado res-

puestas objetivas después del tratamiento antibiótico con doxiciclina. Así pues, el tratamiento debe contemplar la curación, con preservación de la visión y de la integridad de la órbita, y por tanto debe evitarse la cirugía agresiva. En los indolentes, se puede utilizar radioterapia local, pese a las dificultades lógicas de la localización delicada de este tumor, monoquimioterapia e incluso se han descrito remisiones con la administración de colirio de interferón alfa (IFN-α). En los agresivos, se empleará poliquimioterapia con antraciclinas. En términos globales, la supervivencia actuarial es del 75 al 80% a los 10 años.

Linfomas cerebrales primarios

Representan el 2% de los linfomas extraganglionares, y su incidencia está aumentando significativamente en los últimos años[1,2,4-10,81-90]. Son factores predisponentes los estados de inmunodeficiencia, como la infección por VIH, inmunosupresión tras trasplante de órganos, enfermedad del colágeno o vasculitis sistémica. Los linfomas cerebrales primarios (LCP) tienen un pico máximo de incidencia en la sexta década de la vida. La gran mayoría son difusos, de células grandes de fenotipo B, aunque hay algún caso descrito de células T. El virus de Epstein-Barr (VEB) está asociado al desarrollo del LCP asociado a inmunodeficiencia, pero no en los que se desarrollan en pacientes no inmunosuprimidos. La presentación clínica más frecuente en los pacientes inmunocompetentes es una lesión intraparenquimatosa solitaria, generalmente supratentorial. Los síntomas incluyen cefalea, visión borrosa, dificultades motoras y trastornos de la personalidad. Hasta el 15% de pacientes presenta crisis convulsivas, el 5-30%, neuropatía craneal, y el 10%, alucinaciones visuales. La afectación del líquido cefalorraquídeo (LCR) está presente en aproximadamente el 30%, aunque no suele originar manifestaciones clínicas. Menos del 5% tienen afectación sistémica. Es imprescindible realizar un estudio con lámpara de hendidura, ya que hasta en el 15% de los casos existe afectación ocular (vítreo y retina). Radiológicamente, se evidencia una sola lesión o varias lesiones (hasta en el 30% en inmunocompetentes y en el 80% de casos asociados a sida), isodensas o hiperdensas, circunscritas y de densidad homogénea, con poco efecto masa y escaso edema peritumoral. Cuando se administra contraste, el tumor lo capta de manera intensa y uniforme. La RM muestra lesiones isodensas en T1 e hiperintensas en T2. La utilidad del PET se basa principalmente en distinguir lesiones activas de zonas de necrosis o inflamación. El diagnóstico suele efectuarse mediante biopsia estereoatáxica guiada por TC, aunque también puede realizarse mediante el estudio del LCR o del humor vítreo.

Sin tratamiento, estos linfomas tienen un curso muy agresivo, con una supervivencia de 1,5 meses desde el diagnóstico. La introducción de múltiples estrategias terapéuticas ha permitido mejorar la supervivencia, pero también hay que considerar como objetivo relevante la calidad de vida postratamiento. Los corticoides consiguen respuestas en hasta el 40-70% de los casos, pero son siempre transitorias. El tratamiento con radioterapia holocraneal (dosis de hasta 40 Gy) obtiene remisiones completas, pero también de breve duración, con una supervivencia media de 12-18 meses. Los regímenes de quimioterapia para linfomas ganglionares no son útiles para los LCP. Se han utilizado varios citostáticos, solos o en combinación; los más usados son el metotrexato en dosis elevadas, el arabinósido de citosina y las nitrosoureas. Así, se ha observado una mejoría respecto a la radioterapia, con una supervivencia media de 32-54 meses. Actualmente, la tendencia es utilizar dosis altas de metotrexato (desde 1 g/m^2 hasta 8 g/m^2), con rescate con ácido folínico, asociadas o no a dosis intermedias-altas de citarabina. La posterior asociación de radioterapia alcanza elevadas tasas de respuesta, pero estas combinaciones tienen una toxicidad alta en mayores de 60 años, secundarias a neurotoxicidad tardía en forma de radionecrosis y leucoencefalopatía (casi 100% en > 60 años, frente al 30% en < 60 años). La adición de quimioterapia intratecal no mejora la tasa de respuestas ni la supervivencia. El tratamiento después de la recaída es muy limitado (tiotepa, topotecán, idarrubicina), y la supervivencia es inferior al año.

Recientemente, se ha descrito un índice pronóstico específico para los LCP[91]. Los factores pronósticos adversos y la supervivencia según cada grupo de riesgo se muestran en la tabla 26.6.

TABLA 26.6

Índice pronóstico para linfomas cerebrales primarios

Variables adversas: Edad ≥ 60 años
Estado general PS ≥1
LDH > normal
Proteínas LCR aumentadas
Afectación de regiones profundas: regiones periventriculares, ganglios basales, troncoencéfalo, cerebelo

Grupo de riesgo	*N.º de variables*	*Pacientes (%)*	*SG 2 años (%)*
Bajo	0,1	24	80
Intermedio	2-3	54	48
Alto	4-5	22	15

Localizaciones infrecuentes de los linfomas cerebrales primarios

Los *linfomas del globo ocular* tienden a afectar el segmento posterior del ojo, incluyendo vítreo, coroide y retina[1,2,4-10,92]. Así, desde el punto de vista clínico se manifiestan por uveítis, desprendimientos de retina exudativos y hemorragias retinianas y vítreas. Deben diferenciarse del linfoma retroorbital, el cual a menudo se asocia con enfermedad sistémica. El tipo histológico más frecuente es el difuso de células grandes B. El tratamiento no está bien definido, y se propugna por regímenes similares a los utilizados en el LCP, con dosis altas de metotrexato o de citabarina, solas o en combinación con esteroides. También se ha estudiado la administración de metotrexato intravítreo con eficacia, pero con excesiva toxicidad local. La supervivencia es sólo de 6 a 18 meses.

El *linfoma de médula espinal primario* representa menos del 1% de los linfomas primarios del SNC. Las lesiones son casi siempre nódulos intramedulares, hecho que contrasta con la afectación espinal de los sistémicos, en los que suele haber afectación leptomeníngea difusa o nódulos extradurales. La clí-

nica es de mielopatía, con debilidad y nivel sensitivo dependiente de la localización y extensión. En la mayoría de casos, afecta a las regiones cervical baja y torácica alta. El pronóstico es malo, en parte debido a un diagnóstico tardío. El tratamiento recomendado consiste en seguir las pautas del LCP.

El *linfoma leptomeníngeo* constituye menos del 10% de los LCP. La histología, generalmente, consiste en células grandes de fenotipo B, pero se han descrito casos de MALT. Los síntomas a la presentación varían en función de la región afectada, pero son poco específicos. El análisis citológico del LCR desempeña un papel fundamental en el diagnóstico. La supervivencia media es inferior a 6 meses. Se recomienda tratamiento con quimioterapia sistémica, con dosis altas de metotrexato, así como quimioterapia intratecal si el LCR es positivo. La radioterapia puede desempeñar un papel en el tratamiento paliativo.

Linfomas extradurales primarios

El linfoma extradural primario representa el 1% del total de linfomas localizados[1,2,4-10,93]. Se presenta como una compresión medular, con mayor frecuencia a nivel torácico, y el diagnóstico se realiza mediante el tejido resecado durante la cirugía descompresiva. La histología más frecuente es el linfoma de células grandes B, aunque hay otros tipos, entre los que destacan los linfomas tipo MALT. La prueba de imagen de elección es la RM. Generalmente, no hay infiltración del LCR, y las recaídas en el SNC son raras.

La rapidez de actuación tan pronto aparecen síntomas tiene una enorme importancia, y se ha de proceder con urgencia a efectuar una biopsia diagnóstica y descompresiva, sin que sea necesaria la extirpación completa del tumor. Posteriormente, el tratamiento combinado con radioterapia y quimioterapia con antraciclinas ha obtenido buenos resultados, con control local y a distancia de la enfermedad (supervivencia del 80% a los 5 años).

Linfomas pulmonares primarios

El linfoma pulmonar primario es muy poco frecuente y representa menos del 1% de todos los linfomas extraganglionares[1,2,4-10,94,95]. La mayor parte son linfomas indolentes, actualmente categorizados como linfomas MALT/BALT, por derivar de tejido BALT (*bronchus-associated lymphoid tissue*). Representan hasta el 80% o más de todos los linfomas pulmonares, y se producen como consecuencia de la transformación linfomatosa de la hiperplasia linfoide que deriva de infecciones crónicas, colagenosis, síndrome de Sjögren y vasculitis. El resto son linfomas agresivos, entre los que destacan los linfomas difusos de células grandes B (que pueden corresponder a la transformación histológica de un linfoma BALT), la granulomatosis linfomatoide[96] y los infrecuentes linfomas de célula T periférica.

Las manifestaciones clínicas y radiológicas dependen de las variedades histológicas. Los linfomas BALT pueden diagnosticarse casualmente al realizar una radiología de tórax o, más frecuentemente, por síntomas respiratorios inespecíficos (tos, disnea, dolor torácico) o por infecciones respiratorias de repetición. Las pruebas de imagen detectan la presencia de un nódulo, masa o infiltrado solitario en la mitad de los casos, y con mayor frecuencia, en lóbulos inferiores. Una cuarta parte de los casos tienen múltiples áreas afectadas, el 5-10% presentan múltiples nódulos, y menos del 10%, infiltrados intersticiales o alveolares. En la granulomatosis linfomatoide las manifestaciones clínicas son más agudas y graves, con posible afectación de otros órganos (cerebro, riñón, hígado y piel). Existen factores predisponentes, como el trasplante de órganos o la inmunodeficiencia congénita o adquirida. Esta entidad está relacionada con la infección por el VEB, que se puede demostrar en las células B neoplásicas. Radiológicamente, destaca la presencia de múltiples nódulos o masas, y menos frecuentemente, infiltrados alveolares o intersticiales difusos. Se debe diferenciar de los linfomas extraganglionares T/NK de tipo nasal con afectación primaria pulmonar, que también están relacionados con el VEB, pero que tienen su origen neoplásico en células T o NK.

El tratamiento depende del tipo histológico y de la extensión de la enfermedad. En los linfomas BALT son razonables las mismas actitudes que en los linfomas indolentes de origen ganglionar, entre las que se incluyen: observación, radioterapia, monoquimioterapia, poliquimoterapia e incluso anticuerpos monoclonales. Los tratamientos más agresivos consiguen remisiones más precoces, pero no más duraderas, por lo que no se aumenta la supervivencia global. El pronóstico es bueno, con más del 90% de supervivencia a los 5 años y del 70-80% más allá de los 10 años. En contraste, el pronóstico de los linfomas agresivos es considerablemente peor. En los linfomas postrasplante de órganos se debe reducir o suspender la inmunosupresión. Está indicada la quimioterapia con antraciclinas, e incluso tratamientos más intensivos, en función de factores adversos. La supervivencia media es inferior a dos años.

Linfomas primarios de hueso

Los linfomas óseos primarios representan el 4-5% de todos los LNH extraganglionares y el 3% de los tumores óseos[1,2,4-10,97-99]. La mayoría son linfomas difusos de células grandes B. La edad más frecuente de incidencia se sitúa alrededor de los 50 años, con discreto predominio en varones. Los pacientes refieren dolor óseo que no cede con el reposo, con o sin masa palpable. La mayoría tienen afectación exclusiva de un hueso, aunque el 20% presenta enfermedad multifocal. La localización más frecuente es en los huesos largos (fémur, tibia, húmero), siguiendo en orden de frecuencia la pelvis y columna vertebral, la mandíbula y maxilares, las costillas y el cráneo. La afectación ganglionar es rara. Desde el punto de vista radiológico, la lesión puede ser lítica o apolillada, y mostrar erosión cortical y destrucción, pero con escasa reacción del periostio. Mediante TC se observa generalmente osteólisis, pero el patrón de la RM es muy variable. La gammagrafía con tecnecio muestra aumento de captación en la periferia, con un área central con captación disminuida, mientras que la gammagrafía con galio muestra un patrón inverso. A falta de estudios prospectivos, parece ser que el tratamiento con quimioterapia con antraciclinas seguido de radioterapia del campo afectado obtiene un excelente control local de la enfermedad (7% recaídas locales), y un menor número de recaídas a distancia que la radioterapia. No está indicada la profilaxis del SNC. La supervivencia libre de enfermedad a largo plazo es superior al 70%.

Linfomas primarios de mama

Representan solamente el 2% de los linfomas extraganglionares, y entre el 0,04 y el 1% de los tumores malignos de mama[1,2,4-10,100,101]. La gran mayoría tienen una histología de lin-

foma difuso de células grandes B, aunque se han descrito otras histologías: MALT, folicular y Burkitt. También es posible la infiltración secundaria en el curso de leucemias linfáticas crónicas y linfomas del manto. Incide sobre todo en la sexta década, pero en un tercio de casos se presenta antes de los 40 años. La clínica es de una masa palpable unilateral (más frecuente, derecha), generalmente no dolorosa y de rápido crecimiento, pero hasta el 5-10% de los casos es bilateral. Casi la mitad presentan afectación de los ganglios axilares. En las mujeres jóvenes pueden presentarse durante el embarazo o la lactancia. La cirugía no tiene ningún papel en el tratamiento. Actualmente, se recomienda tratamiento combinado con quimioterapia con antraciclinas y posterior adición de radioterapia del campo afectado en los linfomas de mama de células grandes B. Dado que tienen una clara tendencia a extenderse al SNC, está justificada la profilaxis del mismo. Los linfomas de Burkitt deben de ser tratados con regímenes intensivos diseñados específicamente para esta entidad, y los linfomas MALT pueden ser tratados localmente con radioterapia o bien con monoquimioterapia.

Linfomas primarios de testículo

Representan el 1% de todos los LNH y el 5% de las neoplasias testiculares. Se observan generalmente a partir de los 50 años, y a partir de los 60 es la neoplasia testicular más frecuente[1,2,4-10,102,103]. Histológicamente, la mayoría son linfomas difusos de células grandes B. Se presentan en forma de una tumoración escrotal indolora, más frecuentemente unilateral, aunque hasta en el 20% de casos son bilaterales. Su crecimiento es rápido, entre el 20 y 40% tienen síntomas B, y se asocian con hidrocele en más del 40%. Es frecuente la afectación de otras localizaciones extraganglionares: anillo de Waldeyer, SNC, piel, pulmón y otras. Aproximadamente la mitad de los pacientes se diagnostican en estadios localizados, y su pronóstico ha sido clásicamente peor que sus homólogos de inicio ganglionar (supervivencia global del 30, y del 10% en estadios localizados y diseminados, respectivamente). Hay que resaltar que estos linfomas tienen una elevada tasa de recaída en el teste contralateral, así como una clara tendencia a diseminarse en el SNC, incluso en estadios precoces. Por tanto, en los estadios localizados se recomienda orquiectomía del teste afectado, que, generalmente, se realiza para obtener el diagnóstico, quimioterapia sistémica que incluya antraciclinas, y profilaxis activa del SNC. A menudo también se recomienda irradiación en bajas dosis del teste contralateral. En los casos diseminados con factores pronósticos adversos, se pueden plantear tratamientos más intensivos, a semejanza de los linfomas agresivos ganglionares con factores de riesgo.

Otros linfomas del tracto urinario y genital

Los *linfomas primarios del riñón*[104] son raros, y la mayoría son linfomas difusos de células grandes B, aunque hay casos descritos de linfomas MALT. Es mucho más frecuente la afectación renal por diseminación hematógena o por contigüidad.

El *linfoma de vejiga urinaria*[105] también es muy raro, y representa menos del 1% de las neoplasias de vejiga. Es más frecuente en mujeres, y se presenta comúnmente en la sexta o séptima décadas de la vida. Son más frecuentes los tumores de tipo MALT, y se manifiestan por hematuria y cistitis.

El *linfoma de uretra*, también muy raro, sólo ha sido publicado en mujeres de alrededor de 60 años. Suele ser de histología agresiva, y parece tener una elevada predisposición a la diseminación precoz, por lo que se recomienda tratamiento con poliquimioterapia con antraciclinas.

El *linfoma de próstata* es excepcional[106]. Incide alrededor de los 60 años, y con histologías tanto indolentes como agresivas. La presentación clínica es debida a la obstrucción del tracto urinario bajo. Se recomienda tratamiento sistémico con poliquimioterapia, con antraciclinas con o sin la adición posterior de irradiación local.

El *linfoma de ovario*[107] también es raro, aunque la afectación secundaria no es infrecuente en los linfomas agresivos. La mayoría corresponden a linfomas difusos de células grandes B, aunque se han descrito otras histologías: Burkitt, foliculares, etc. Afecta a mujeres de cualquier edad. Suele ser bilateral, a menudo con masas voluminosas y con una conducta agresiva. En general, tienen pronóstico desfavorable y requieren tratamiento con diferentes poliquimioterapias en función del subtipo histológico. Algunos autores recomiendan profilaxis del SNC.

El *linfoma uterino* es menos raro que el ovárico, y su localización más frecuente es el cuello. En la mayoría de casos, son linfomas difusos de células grandes B, aunque algunos casos son MALT u otras histologías. Tiene una mayor tendencia a permanecer localizado que su homólogo ovárico, y también presenta mejor pronóstico. Al ser relativamente frecuente diagnosticarlo en estadio IE tras una histerectomía, el tratamiento suele incluir quimioterapia con antraciclinas en las histologías agresivas. Se puede considerar radioterapia en las histologías indolentes. También se han descrito casos de linfomas de cérvix y vagina.

Linfomas de mediastino

El linfoma de mediastino es un linfoma de células grandes B que representa el 2,5% del total de LNH[1,2,4-10,108-111]. Se ha demostrado que las células neoplásicas de este linfoma se originan en una subpoblación específica de linfocitos B que reside en la médula tímica. Así, al igual que otros autores, creemos más oportuno incluir esta entidad dentro de los linfomas extraganglionares. Se presenta en pacientes jóvenes con edad media de 30 años y un claro predominio en mujeres. Tiene localización en el mediastino anterior, invade estructuras vecinas como la pleura, el pericardio, la pared torácica y los grandes vasos, causando a menudo un síndrome de vena cava superior. Menos del 15% tienen síntomas B, no suele existir prurito y la afectación adenopática es poco frecuente. La mayoría de casos son estadios I-II, y hasta el 30% tienen enfermedad voluminosa. Si hay afectación a distancia, puede localizarse en: riñón, hígado, glándulas adrenales, páncreas, ovario y SNC. Es infrecuente la afectación de la médula ósea. La apariencia histológica está caracterizada por una infiltración difusa por células B, a menudo con esclerosis. Recientemente, se ha observado que el patrón de expresión de genes del linfoma mediastínico primario es más similar al del linfoma de Hodgkin clásico que al de los linfomas difusos de células grandes B.

El tratamiento óptimo no está bien definido, debido a la ausencia de estudios aleatorizados. De acuerdo con la literatura, los regímenes más utilizados han sido CHOP y regímenes de tercera línea, seguidos o no de radioterapia del campo

afectado. La mayoría de estudios sugiere mejores resultados con los regímenes de tercera línea, con una supervivencia libre de progresión a los 10 años del 35%, y del 67% con CHOP y VACOP-B o MACOP-B, respectivamente. Parece que la administración de radioterapia tiene un impacto positivo, independientemente del esquema de quimioterapia utilizado. En este contexto, es muy frecuente la presencia de una masa residual, situación clínica en la cual es muy útil el estudio mediante ^{67}Ga-SPECT. La avidez de la masa residual por el galio es predictiva de recidiva.

No se conoce el impacto de la intensificación de dosis seguida de trasplante de progenitores hematopoyéticos en situación de primera remisión. Las recaídas suelen presentarse en el primer año y, desafortunadamente, la supervivencia es muy escasa en esta situación, independientemente de la estrategia que se realice.

Linfomas primarios esplénicos

Los linfomas primarios esplénicos constituyen el 2% de los LNH, aunque su afectación secundaria es mucho más frecuente (hasta el 20% de los LNH a la presentación) [1,2,4-10,112]. Su histología es heterogénea, y se han descrito linfomas de células grandes B, foliculares y otras, siendo la mayoría de fenotipo B. Quizá la entidad mejor definida es el linfoma esplénico de la zona marginal de tipo MALT, que presenta características histológicas y clínicas distintivas. Se presentan a una edad media de 60 años y con predominio femenino. La sintomatología es secundaria a la esplenomegalia, con dolor y malestar abdominal o en hipocondrio izquierdo, y analíticamente pueden detectarse signos de hiperesplenismo. En ocasiones, la aparición de fiebre y dolor agudo en el hipocondrio puede hacer sospechar la presencia de un infarto esplénico. Generalmente, la esplenectomía confirma el diagnóstico y, a su vez, puede ser el único tratamiento necesario, sobre todo si se trata de linfomas indolentes. En caso de linfomas de células grandes, suele ser necesaria la administración de quimioterapia con antraciclinas.

Linfomas primarios cutáneos

Los linfomas primarios cutáneos (LPC) constituyen un grupo heterogéneo de linfomas de célula B y T, que tienen una gran variabilidad de presentación clínica, histopatología, inmunofenotipo, reordenamiento de genes y pronóstico[1,2,4-10,113-115]. Representan el segundo grupo en frecuencia de linfomas extraganglionares después de los linfomas gastrointestinales primarios. La incidencia anual es de 0,5 a 1 casos por 100.000 habitantes y, al igual que en otros linfomas, está aumentando en las últimas décadas.

El linfoma cutáneo se define como una acumulación de linfocitos originados en la piel, sin manifestaciones extracutáneas al diagnóstico, ni en los seis meses siguientes, tras los adecuados estudios de extensión. Este principio no afecta a los pacientes con micosis fungoides, que pueden tener afectación ganglionar, ni a los síndromes de Sézary, que pueden tener expresión en sangre periférica.

Clásicamente, los linfomas cutáneos se han confundido con infiltraciones linfoides benignas, que se catalogaban como seudolinfomas por su parecido clínico e histológico. Se incluían aquí el linfocitoma cutis, la linfadenosis benigna cutis, reacciones a fármacos, dermatitis linfomatoides de contacto, nódulos por picaduras de artrópodo y la misma papulomatosis linfomatoide antes aludida y hoy día mejor conocida. En la actualidad, los estudios inmunofenotípicos y de biología molecular permiten una catalogación mucho más precisa.

Actualmente, existen dos tendencias para clasificar los linfomas primarios cutáneos: la clasificación propuesta por la EORTC[113] y la propuesta por la OMS[12] (tabla 26.7). La primera es aplicable exclusivamente a los linfomas cutáneos primarios, y la segunda se aplica a todas las neoplasias linfoides. Son muy similares en cuanto a la categorización de los linfomas T, pero difieren significativamente respecto a los de células B. No existen comparaciones directas entre ambas clasificaciones, y actualmente existe controversia respecto a la aplicabilidad clínica de las mismas, aunque se está trabajando para realizar una clasificación de consenso. La frecuencia relativa de las entidades más relevantes, y su supervivencia a los 5 años se exponen en la tabla 26.8.

La *micosis fungoides* (MF) es el LPC más frecuente, afecta a adultos y tiene un predominio masculino. Clínicamente, se caracteriza por máculas, placas o tumores, con un curso indolente con progresión durante años o incluso décadas. En estadios tardíos de la enfermedad aparecen adenopatías e infiltración de órganos. Histológicamente, se caracteriza por infiltrados con epidermotropismo que afectan la dermis papilar por linfocitos pequeños o medianos y células grandes mononucleadas con núcleo convoluto y cerebriforme. La presencia de microabscesos de Pautrier es muy típica, pero poco frecuente. En las fases iniciales de la enfermedad el tratamiento es local, con fototerapia (PUVA), mostaza nitrogenada o BCNU tópicos o radioterapia (haz de electrones). Si existe afectación ganglionar o visceral, está indicado el tratamiento con quimioterapia sistémica o agentes inmunomoduladores (metotrexato, clorambucilo, adriamicina, esteroides, retinoides, IFN-α o IFN-γ). Los tratamientos más recientes incluyen los anticuerpos monoclonales anti-CD52 (Campath-1H) y dilfitox denileukin (proteína de fusión específica del receptor de la interleucina 2 combinado con toxina diftérica). Aparte del tipo clásico (de Alibert-Bazin), se han descritos variantes con características clinicopatológicas distintivas, como la MF asociada con mucinosis folicular, reticulosis pagetoide y la granulomatosis de piel laxa (granulomatosis *slack skin*). El síndrome de Sézary se describe en otro capítulo.

En el grupo de LPC CD30 positivos se incluyen el linfoma de células grandes T CD30 positivo, la papulosis linfomatoide y casos limítrofes entre ambas entidades. El *linfoma de células grandes T CD30+* se presenta como nódulos o tumores aislados, a menudo con ulceración, y se observan remisiones espontáneas en hasta el 25% de los casos[116]. El curso clínico es indolente, con una supervivencia del 90% a los 5 años. Histológicamente, se pueden identificar varias apariencias, como la anaplásica, inmunoblástica y pleomórfica, pero sin observarse diferencias significativas en cuanto a su presentación clínica ni a su evolución. La radioterapia es el tratamiento preferido en casos de lesiones aisladas, mientras que la quimioterapia lo es en la enfermedad diseminada. La *papulosis linfomatoide* se caracteriza por la presencia de lesiones cutáneas papulosas, papulonecróticas y nodulares en diferentes estadios de desarrollo. Algunas desaparecen espontáneamente, y entre el 10-20% de casos precede o está seguido de otro linfoma cutáneo T o de otro tipo (MF, linfoma

TABLA 26.7

Clasificación de los linfomas cutáneos primarios de la EORTC y su correspondencia en la clasificación de la OMS

EORTC	OMS
Linfomas de célula T	
Indolentes	
Micosis fungoides	Micosis fungoides
Linfoma de células grandes T CD30+	Linfoma anaplásico CD30+ (incluye papulosis linfomatoide)
Papulosis linfomatoide	
Agresivos	
Síndrome de Sézary	Síndrome de Sézary
Linfoma de células grandes T CD30–	Linfoma T periférico, no especificado
Entidades provisionales	
Linfoma de células T, pleomórfico, de célula pequeña-mediana	Linfoma T periférico, no especificado
Linfoma de célula T subcutáneo tipo paniculítico	Linfoma célula T subcutáneo tipo paniculítico
Granulomatosis de piel laxa	Granulomatosis de piel laxa
Linfomas de célula B	
Indolentes	
Linfoma de célula centrofolicular	Linfoma folicular y linfoma difuso de células grandes B
Linfoma de la zona marginal	Linfoma de la zona marginal de tipo MALT
Intermedios	
Linfoma de células grandes B de las piernas	Linfoma difuso de células grandes B y linfoma folicular
Entidades provisionales	
Plasmocitoma	Plasmocitoma
Linfoma intravascular de células grandes B	Linfoma difuso de células grandes B

TABLA 26.8

Frecuencia relativa y supervivencia a los 5 años de los principales grupos de linfomas cutáneos

Entidad	Frecuencia (%)	SG a 5 años
Micosis fungoides	44	87
LCCT, célula grande CD30+	9	90
Papulosis linfomatoide	11	100
LCCT, célula grande CD30–	5	15
Síndrome de Sézary	2	11
LCCT, pleomórfico célula pequeña-mediana	3	62
Linfoma célula centrofolicular	13	97
Linfoma de la zona marginal	2	100
LCGB de las piernas	3	58
Linfoma intravascular de célula B	< 1	50

LCCT: linfoma cutáneo de célula T; LCGB: linfoma de células grandes B.

de Hodgkin o LPC T CD30+). Los tratamientos empleados consisten en PUVA, quimioterapia tópica o dosis bajas de metotrexato, aunque la enfermedad recidiva a los pocos meses de finalizar el tratamiento.

Los *linfomas de células grandes T CD30–* se presentan con placas, nódulos o tumores solitarios y localizados. El curso clínico es muy agresivo. Se recomienda quimioterapia sistémica con antraciclinas, aunque es poco eficaz, ya que la supervivencia es del 15% a los 5 años. Los linfomas de células T provisionales son la granulomatosis de piel laxa, LPC de célula pleomórfica de pequeño-mediano tamaño y *linfoma de célula T subcutáneo tipo paniculítico*[117]. Esta última variedad es muy agresiva, en general, y de muy mal pronóstico. Se observan placas y nódulos subcutáneos, que afectan principalmente las piernas o, menos frecuentemente, el tronco. A menudo va acompañado de síntomas sistémicos, y la presencia de síndrome hemofagocítico está generalmente asociada a un curso rápidamente progresivo.

En el grupo de los LPC de células B, el *LPC de célula centrofolicular* es el más frecuente[118,119]. Se presenta en forma de pápulas, placas o tumores, solitarios o agrupados, que pueden estar rodeados por eritema. Son más frecuentes en la cabeza, cuello o tronco. Si no se tratan, las lesiones aumentan de tamaño progresivamente, pero es muy infrecuente la diseminación. No está presente la translocación t(14;18) ni existe expresión de la proteína bcl-2 en la mayoría de los casos. La radioterapia es el tratamiento de elección, aunque en los casos más diseminados se debe valorar el tratamiento con quimioterapia. El *inmunocitoma primario cutáneo* (linfoma de célula B de la zona marginal) se presenta en forma de tumores cutáneos aislados o múltiples, preferentemente en las extremidades. Se ha asociado con infección por *Borrelia burgdorferi*[29]. Si persiste la enfermedad después de la exéresis diagnóstica, se recomienda radioterapia, y su pronóstico es excelente. Los *linfomas de células grandes B de las piernas* afectan principalmente a pacientes ancianos, y se caracterizan por nódulos o tumores en una o ambas extremidades inferiores. En contraste con los LPC de célula centrofolicular, expresan fuertemente la proteína bcl-2. La supervivencia a los 5 años es del 58%. Se caracterizan por un curso clínico

agresivo y múltiples recaídas, generalmente locales en la piel o en ganglios locorregionales. En esta entidad debería indicarse tratamiento sistémico con quimioinmunoterapia (R-CHOP) o incluso regímenes más intensivos. Otros LPC provisionales con origen en células B son el linfoma intravascular de células grandes B y el plasmocitoma.

Otros linfomas primarios extraganglionares

Nos referimos a LEP que no se originan en una determinada víscera o tejido ganglionar y que son, en conjunto, francamente excepcionales[1,2,4-10].

El *linfoma intravascular de células grandes B*[120-122] es una rara entidad caracterizada por la proliferación de células linfoides de fenotipo habitualmente B en el interior de la luz de los capilares y pequeñas venas y arterias. La afinidad endotelial se atribuye a defectos de receptores de *homing* en las células linfoides neoplásicas. Los órganos afectados con mayor frecuencia son el SNC, los riñones, el pulmón y la piel, aunque cualquier órgano puede estar virtualmente afectado. Sin embargo, no suele haber expresión en sangre periférica, ni afectación de la médula ósea ni del LCR. El inicio de la enfermedad suele cursar con fiebre, lesiones cutáneas (placas y nódulos) y deterioro neurológico rápido (síntomas focales y demencia). El diagnóstico es difícil, y en muchos casos sólo es posible en la necropsia. El diagnóstico diferencial se establece con otros procesos sistémicos, como vasculitis, síndromes microangiopáticos, síndrome antifosfolípido primario agresivo, infecciones o neoplasias ocultas, y diversos tipos de demencia. Si el diagnóstico es precoz, el tratamiento con quimioterapia con antraciclinas puede lograr remisión, y es posible la supervivencia a largo plazo.

El *linfoma de las cavidades serosas*[123,124] es una neoplasia de células grandes de fenotipo B que se presenta como derrames en serosas, sin la presencia de masas tumorales. Incide casi exclusivamente en enfermos de sida, con gran predominio en varones homosexuales. Las células neoplásicas son positivas para el virus HHV-8 y la mayoría también están coinfectados por el VEB. Clínicamente, se manifiesta por la presencia de derrames de cavidades serosas, sobre todo de pleuras, pero también muy a menudo del peritoneo, con ascitis y, más raramente, derrame pericárdico. Típicamente, sólo hay una localización afectada. No se encuentran masas en las cavidades afectadas ni se observan tampoco adenopatías ni organomegalias. El pronóstico es malo, con supervivencia media inferior a 6 meses.

El *linfoma hepatoesplénico de célula T*[125,126] es una neoplasia derivada de células T, generalmente del tipo de receptor gamma-delta. Se observa en especial en adolescentes y adultos jóvenes, con predominio en varones. Existen antecedentes de trasplante de órganos o de inmunosupresión (38%). Todos los pacientes presentan esplenomegalia, el 70 a 80% hepatomegalia y, generalmente, no hay adenopatías periféricas. El 70% tienen síntomas B. El hemograma inicial puede ser normal o evidenciar trombocitopenia (95%), anemia moderada (75%) y, en ocasiones, leucopenia o leucocitosis. También se pueden observar citopenias inmunes. El examen detenido de la sangre periférica evidencia elementos atípicos en más de la mitad de casos. El estudio mediante técnicas de inmunohistoquímica detecta infiltración medular en la práctica totalidad de los casos. Es casi constante que esta población de linfocitos evidencie un isocromosoma 7q–, a veces en combinación con otras alteraciones, como la trisomía 8. Generalmente, se puede evidenciar reordenamiento del gen gamma del receptor de células T. El gen beta del receptor de células T puede mostrar reordenamiento o estar en línea germinal. Si bien se registran respuestas iniciales tras quimioterapia con antraciclinas, las recidivas son muy frecuentes. El curso clínico es agresivo, con una supervivencia media de 16 meses.

El *linfoma asociado a piotórax*[127,128] corresponde a un linfoma de célula B de localización en la cavidad pleural de pacientes con una larga historia de piotórax resultado de neumotórax terapéutico para el tratamiento de tuberculosis pulmonar o pleural. Por tanto, este linfoma de células grandes es consecuencia de una situación de inflamación crónica prolongada. Los síntomas más frecuentes son dolor torácico y fiebre. Está asociado a infección por el VEB en el 70% de los casos. El tratamiento con quimioterapia obtiene respuestas en más del 50%, pero la supervivencia es de sólo el 21% a los 5 años.

BIBLIOGRAFÍA

1. Isaacson PG, Norton AJ. Extranodal lymphomas. Edimburgo: Churchill Livingstone, 1994.
2. D'Amore F, Christensen BE, Brincker H et al. Clinicopathological features and prognostic factors in extranodal non-Hodgkin's lymphomas. Eur J Cancer 1991; 27:1201-1208.
3. Raghoebier S, Kramer MHH, Van Brieken JHJM et al. Essential differences in oncogene involvement between primary nodal and extranodal large cell lymphoma. Blood 1991; 78:2680-2685.
4. Freeman C, Berg JN, Cutler SJ. Occurrence and prognosis of extranodal lymphomas. Cancer 1972; 29:252-260.
5. Aisenberg AC. Extranodal lymphoma: presentation, natural history, and special treatment considerations. En: Aisenberg AC (ed.). Malignant lymphoma. Biology, natural history, and treatment. Filadelfia: Lea Febiger, 1991; 235-318.
6. Sutcliffe SB, Gospodarowicz MK. Primary extranodal Lymphomas. En: Canellos GP, Lister TA, Sklar JL (eds.). The lymphomas. Filadelfia: WB Saunders, 1998; 449-479.
7. Zucca E, Roggero E, Bertoni F, Cavali F. Primary extranodal non-Hodgkin´s lymphomas. Part 1: Gastrointestinal, cutaneous and genitourinary lymphomas. Ann Oncol 1997; 8:727-737.
8. Zucca E, Roggero E, Bertoni F, Conconi A, Cavali F. Primary extranodal non-Hodgkin´s lymphomas. Part 2: Head and neck, central nervous system and other less common sites. Ann Oncol 1999; 10: 1023-1033.
9. Doll DC. Guest editor. Extranodal lymphomas. Semin Oncol 1999; 26:249-364.
10. Young GAR. Lymphoma at uncommon sites. Hematol Oncol 1999; 17:53-83.
11. Jaffe ES, Harris NL, Stein, Vardiman JW (ed.). Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. WHO Classification of Tumours. Lion: IARC Press, 2001.
12. Harris NL, Jaffe ES, Stein H et al. A Revised European-American Clasification of Lymphoid Neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. Blood 1994; 84:1361-1392.
13. Isaacson P, Wright DH. Malignant lymphoma of mucosa associated lymphoid tissue. A distinctive type of B-cell lymphoma. Cancer 1983; 52:1410-1416.
14. Isaacson P, Wright DH. Extranodal malignant lymphoma arising from mucosa associated lymphoid tissue. Cancer 1984; 53:2515-2524.
15. Isaacson PG, Spencer J. Malignant lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. Histopathology 1987; 11:445-462.
16. Isaacson PG. Lymphomas of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT). Histopathology 1990; 16:617-619.

CAPÍTULO 27

Linfomas no hodgkinianos: estudio de extensión, factores pronósticos y tratamiento

A. Salar y C. Besses

ÍNDICE

Introducción
Estudio de extensión
Factores pronósticos
Modelos predictivos basados en los factores pronósticos clínicos pretratamiento
Tratamiento de los linfomas no hodgkinianos
Linfomas indolentes
Estadios localizados
Estadios avanzados
Tratamiento de los linfomas foliculares
Tratamiento de otros linfomas indolentes
Linfomas agresivos
Tratamiento de los linfomas difusos de células grandes B
Tratamiento del linfoma del manto
Tratamiento de los linfomas T
Linfomas muy agresivos
Linfoma linfoblástico
Linfoma de Burkitt
Tratamiento de las recaídas
Linfomas indolentes
Linfomas agresivos
Nuevos tratamientos
Bibliografía

INTRODUCCIÓN

Los linfomas no hodgkinianos (LNH) representan aproximadamente el 3-5% de las muertes por cáncer en los países desarrollados[1], y su tasa de incidencia anual en nuestro medio es de 9 casos por 100.000 habitantes[2]. Constituyen un grupo heterogéneo de neoplasias linfoides con diferente histología, inmunofenotipo, alteraciones genéticas y moleculares, que condiciona una distinta conducta clínica y evolutiva. Esta diversidad determina que su tratamiento sea uno de los aspectos más complejos y controvertidos de la oncohematología. El estudio de extensión es un procedimiento previo fundamental antes de iniciar el tratamiento de un LNH[3] y su cumplimiento correcto permitirá: *a*) determinar la diseminación de la enfermedad; *b*) evaluar sus factores pronósticos, y *c*) proporcionar la información necesaria para diseñar una estrategia terapéutica adecuada. Tan importante como la estadificación es el conocimiento de la histopatología y la historia natural de las diferentes entidades anatomoclínicas que forman los LNH, pues de ello se derivan actitudes prácticas. Por ejemplo, el conocido tropismo hacia el sistema nervioso central (SNC) de los linfomas linfoblástico y Burkitt determina incluir en el estudio de extensión inicial la valoración del líquido cefalorraquídeo (LCR) mediante punción lumbar y, a su vez, realizar una profilaxis frente a la potencial difusión en el mismo.

Uno de los avances más importantes en el manejo clínico de los pacientes con LNH durante la última década ha sido el desarrollo de nuevos sistemas de clasificación. Un diagnóstico patológico correcto es crucial para el manejo clínico óptimo. En 1994, se publicó la clasificación REAL[4] y, recientemente, se ha elaborado una versión actualizada y ligeramente modificada bajo el auspicio de la OMS[5]. Ambas clasificaciones describen las entidades clinicopatológicas reconocidas hasta la fecha y definidas por la histología, inmunohistoquímica, citogenética, biología molecular y características clínicas. Esta individualización es precisamente contraria a la agrupación morfológica clásica en linfomas de bajo y alto grado de malignidad (basada en el tamaño celular y en la actividad proliferativa). No obstante, desde un punto de vista clí-

nico y a efectos didácticos, clasificaremos el tratamiento de las entidades que conforman los LNH en tres grupos, en relación con su conducta clínica y supervivencia: indolentes, agresivos y muy agresivos. En las entidades excepcionales o con un comportamiento característico se establecerán los matices necesarios.

ESTUDIO DE EXTENSIÓN

Los LNH pueden originarse tanto en tejido linfoide como en otros órganos, y tienen un patrón de diseminación mucho menos predecible que los linfomas de Hodgkin (LH). El sistema de estadificación clinicopatológico de Ann Arbor[6], diseñado en 1971 para su utilización en el linfoma de Hodgkin, y modificado en 1989 en la Conferencia de Costwolds (tabla 27.1)[7], todavía se sigue utilizando como sistema para determinar la extensión de los LNH. El sistema de Ann Arbor ha probado su valor en el LH, pero su aplicación en los LNH es menos satisfactoria y ha sido ampliamente cuestionado. Sin embargo, no existe actualmente ninguna alternativa de consenso para su aplicación en los pacientes con LNH. Por otra parte, la separación mediante este sistema en dos categorías (I-II frente a III-IV) proporciona una de las variables que han mostrado impacto pronóstico en todos los índices pronósticos recientemente diseñados, y que serán analizados en la próxima sección.

En las tablas 27.2 y 27.3 se detallan las exploraciones complementarias que en el estudio inicial de un LNH aportan información de la extensión, del pronóstico y también parámetros mesurables susceptibles de revaluación en un momento determinado y que permitirán determinar el tipo de respuesta logrado.

Es muy importante la realización de una *historia clínica* detallada. Hay que interrogar acerca de la fecha de percepción de la aparición de las adenopatías y de su evolución posterior, de la presencia de síntomas B o de otros síntomas que sugieran afectación de otros órganos. Es recomendable obtener información acerca de antecedentes familiares de síndromes linfoproliferativos u otras neoplasias, y también antecedentes personales de exposición a factores físicos, quí-

TABLA 27.1

Clasificación de estadios de Ann Arbor (modificación de Cotswolds)

Estadio I	Afectación de una única región ganglionar o una única estructura linfoide (bazo, timo, anillo de Waldeyer) (I) o de una única y «limitada» localización extralinfática (I-E)
Estadio II	Afectación de 2 o más regiones ganglionares en el mismo lado del diafragma (II) o afectación limitada y por contigüidad (a partir de una zona ganglionar afectada) de una localización extralinfática y de una o más regiones ganglionares en el mismo lado del diafragma (II-E)
	Debe indicarse el número de localizaciones ganglionares con un dígito en subíndice (II_3, II_4...)
Estadio III	Afectación de regiones linfáticas a ambos lados del diafragma (III), que pueden ir acompañadas de afectación extralinfática localizada (III-E)
Estadio III-1	Afectación esplénica o de ganglios hiliares hepáticos o esplénicos, celíacos o portales
Estadio III-2	Afectación de ganglios paraaórticos, ilíacos o mesentéricos
Estadio IV	Afectación diseminada de uno o más órganos extralinfáticos, asociada o no con enfermedad en los ganglios linfáticos
	Debe indicarse en subíndice las iniciales de los órganos afectados (M: médula ósea; H: hígado; L: pulmón; O: hueso; P: pleura; D: piel)
Criterio de «masa voluminosa» (*bulky*): añadir la letra X	
Cualquier masa ganglionar igual o superior a 10 cm, mesurable por exploración física o por técnicas de imagen	
En mediastino (radiografía de tórax): cuando el diámetro máximo de la masa es igual o superior a 1/3 del diámetro del tórax medido a la altura de D5-D6	
Síntomas	A: asintomático B: fiebre, sudoración nocturna, pérdida de peso superior al 10% del peso corporal en los 6 meses previos

TABLA 27.2

Exploraciones complementarias indispensables en el estudio de extensión de un linfoma no hodgkiniano

1. *Historia clínica*
   - Antecedentes familiares de LNH
   - Exposición a factores químicos o físicos asociados al desarrollo de LNH
   - Antecedentes de inmunodeficiencia congénita o adquirida
   - Duración y ritmo de crecimiento de las adenopatías
   - Valoración de síntomas B
   - Síntomas de afectación extraganglionar
2. *Exploración física*
   - Valoración del estado general (p. ej., escala ECOG)
   - Exploración de todos los territorios ganglionares periféricos
   - Exploración de la orofaringe
   - Examen de la piel
   - Valoración de visceromegalias y masas
3. *Estudios de laboratorio*
   - Hemograma completo y morfología de sangre periférica
   - VSG
   - Función renal y hepática
   - Proteinograma
   - LDH y β_2-microglobulina
   - Serologías: virus de la hepatitis C (VHC) y virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)
4. *Técnicas de diagnóstico por la imagen*
   - Radiografía de tórax posteroanterior y lateral
   - TC torácica, abdominal y pélvica
5. *Biopsia de médula ósea ± improntas de biopsia o aspirado medular*

TABLA 27.3

Exploraciones complementarias adicionales en el estudio de extensión de un linfoma no hodgkiniano

1. *Estudios de laboratorio*
   - Calcio, dosificación de inmunoglobulinas, CA125
   - Prueba de antiglobulina directa
2. *Técnicas de diagnóstico por la imagen*
   - Estudios baritados (tránsito intestinal, enema opaco)
   - Endoscopias respiratoria y digestiva
   - Ecoendoscopia
   - Ecografía (cervical, testicular, tiroidea, ocular, etc.)
   - TC cervical
   - TC del sistema nervioso central
   - Gammagrafía con galio (^{67}Ga-SPECT)
   - Gammagrafía ósea con tecnecio
   - RM
   - PET
3. *Punción lumbar*
4. *Biopsia hepática*
5. *Estudios de clonalidad en sangre periférica o en médula ósea*
   - Citometría de flujo
   - Técnicas moleculares (p. ej., reordenamiento de las cadenas pesadas de inmunoglobulinas)
6. *Estudios de bcl-2 o bcl-1 en sangre periférica o en médula ósea*

micos o infecciosos, y de la presencia de enfermedades autoinmunes, inmunodeficiencias, etc.) o pertenencia a grupos de riesgo (infección por VIH) asociados al desarrollo de LNH. También es imprescindible conocer las enfermedades concurrentes y su repercusión orgánica.

El *examen físico* debe incluir, además de la metódica de exploración de los territorios ganglionares clásicos, áreas frecuentemente poco exploradas, como el anillo de Waldeyer, los ganglios epitrocleares, occipitales y femorales, así como los ganglios regionales de los linfomas con origen extraganglionar. Es útil recordar que la afección ganglionar preauricular se asocia con afección del anillo de Waldeyer y ésta, a su vez, con una posible afección gástrica.

Aproximadamente, dos de cada tres pacientes con LNH se presentan con poliadenopatías periféricas. El punto más importante es una evaluación histopatológica precisa de un tejido neoplásico suficiente y representativo, preferentemente un ganglio entero. Así, la *exéresis ganglionar* siempre es preferible a la *biopsia*, pues posibilita la realización de los imprescindibles estudios de morfología e inmunohistoquímica y, en muchos casos, la aplicación adicional de técnicas complementarias de citogenética y de biología molecular. En caso de poliadenopatías, el orden preferente de exéresis sería, en primer lugar, las adenopatías supraclaviculares y cervicales, a continuación, las axilares y, en último lugar, las inguinales. Aunque se puede realizar el diagnóstico de linfoma mediante una *punción ganglionar*, la información proporcionada por esta técnica nunca puede sustituir a la que se obtiene mediante exéresis ganglionar, y debe interpretarse con precaución, incluso cuando se combina con el estudio del inmunofenotipo. En determinados casos, puede ser suficiente para confirmar el diagnóstico de LNH (masas no accesibles fácilmente en pacientes con estado general muy deteriorado, sospecha de recaída linfomatosa, etc.). Sin embargo, nuestra actitud es siempre la de disponer de histología, ya sea en el diagnóstico inicial como en una situación de sospecha de recidiva, y nunca puede dejarse de hacer hincapié en la importancia de la obtención de una buena exéresis ganglionar para un diagnóstico adecuado. Recientemente, se ha confirmado que la punción con aguja fina no es útil ni es coste-efectiva, e incluso puede desorientar al clínico[8]. Por otra parte, hay que resaltar la conveniencia de guardar material congelado en un Banco de Tumores, para la realización de estudios posteriores que requieren material fresco (estudios de biología molecular, microarrays, etc.).

La *discusión del diagnóstico con el patólogo* y otros especialistas implicados (citología hematológica, inmunofenotipo, citogenética, biología molecular, etc.) es imprescindible, y su integración se contempla actualmente en la clasificación de la OMS. Las *técnicas de inmunohistoquímica* detectan antígenos de la superficie celular o intracitoplasmáticos que informan del origen inmunológico del linfoma (B, T, NK) y de su fase evolutiva. También ayudan a evidenciar la disposición arquitectural y topográfica ganglionar del tumor, así como de la expresión de determinadas proteínas que definen entidades concretas (nucleofosmina-cinasa: linfoma anaplásico, ciclina D1: linfoma del manto) y del grado de proliferación celular (Ki-67), así como de oncogenes con significado pronóstico (c-myc, p53). El *análisis citogenético y de biología molecular* también es de gran utilidad diagnóstica al poder correlacionar alteraciones cromosómicas o moleculares específicas con entidades clinicopatológicas, y también permite identificar alteraciones que tienen impacto evolutivo.

La *biopsia medular* (BM) es un procedimiento de rutina utilizado en el estudio de extensión, en la documentación de la remisión (si existía afección medular inicial) o en los casos de recidiva. La afectación medular varía considerablemente en función de la histología, y es del 40-90% y del 15-35% para los linfomas indolentes y los agresivos, respectivamente. El tamaño del cilindro medular es importante para considerar una muestra representativa, debido a la frecuente afección focal observada en los LNH, y debería tener una longitud de 2 cm[9]. Continúa la controversia respecto a si los pacientes requieren una BM unilateral o bilateral. Aunque las biopsias bilaterales incrementan el rendimiento como mucho en el 26%, originan un cambio en la estadificación en sólo el 6% de los LNH indolentes, y en el 2,5% de los agresivos. Por tanto, realizar una BM bilateral tiene un efecto limitado en sobreestadiar algunos pacientes de estadios I-II a IV. El resultado de la biopsia medular debería informarse no sólo como positivo o negativo para linfoma, sino también con descripción del tipo de patrón infiltrativo, el porcentaje de invasión y la morfología celular. Existe discordancia con la histología ganglionar en el 20% de los linfomas foliculares y en hasta el 40% en los linfomas de células grandes, pero es infrecuente en los linfomas linfoplasmacíticos o Burkitt.

El *aspirado medular* tiene una baja rentabilidad, y puede infradiagnosticar la afección medular, ya que ésta suele ser focal o bien existe fibrosis asociada al infiltrado. Incluso la combinación con citometría de flujo es cuestionable[10]. Sin

embargo, en casos con infiltración medular difusa, la combinación de un cuidadoso examen morfológico con técnicas complementarias (citometría, citogenética, molecular) puede proporcionar el diagnóstico de certeza.

El *estudio citológico del LCR* mediante punción lumbar es imprescindible en los pacientes con síntomas sugestivos de infiltración del SNC (cefalea, letargia, síntomas neurológicos focales, etc.), en los linfomas de tipo linfoblástico y Burkitt, en los linfomas de células grandes que cursan con afección medular y en los linfomas extraganglionares de testículo y de senos paranasales.

El *examen morfológico intencionado de sangre periférica* puede evidenciar la presencia de células linfoides atípicas circulantes hasta en el 30% de los linfomas foliculares en estadios avanzados, y en más del 50% de linfomas del manto. Este único dato permite incluir al paciente en un estadio IV, con las consiguientes connotaciones pronósticas.

La *biopsia hepática percutánea* puede detectar infiltración hepática en hasta el 30% de pacientes con linfoma folicular, aunque la mayoría de estos pacientes tiene infiltración de la médula ósea o bien están en estadio III, por lo que la estrategia terapéutica no cambiará y, por tanto, no está justificado su uso rutinario.

Las *endoscopias* respiratorias o digestivas (fibrogastroscopia, rectoscopia o fibrocolonoscopia) desempeñan un importante papel en el estudio de extensión de pacientes con posible infiltración de estos territorios. El empleo de la *ecoendoscopia gástrica* está indicado tanto en los linfomas gástricos primarios indolentes como en los agresivos.

Las *técnicas de diagnóstico por la imagen* empleadas en la estadificación de los LNH son diversas. Los estudios de diagnóstico por la imagen deben incluir una radiografía simple de tórax, que es útil para valorar rápidamente la presencia de adenopatías mediastínicas o hiliares, afectación del parénquima pulmonar (inferior al 5% en los LNH) o bien derrame pleural. Actualmente, la técnica radiológica por excelencia, y de referencia para determinar la extensión de la enfermedad, es la tomografía computarizada (TC). Generalmente, se efectúa un estudio mediante TC de tórax, abdomen y pelvis, con la administración de un medio de contraste que permite visualizar mejor las estructuras vasculares y las lesiones parenquimatosas. Las ventajas de la TC respecto a otras técnicas son: facilidad de acceso, reproducibilidad, brevedad en su realización que facilita la tolerancia del paciente, resultados independientes del radiólogo y accesibilidad a clínicos u otros radiólogos que no realizan el estudio. La TC torácica es más sensible que la radiografía de tórax y detecta anomalías en hasta el 10-30% de casos con radiología simple normal. Este hecho implicará el cambio del estadio en, aproximadamente, el 16% de pacientes con LNH, y el tratamiento terapéutico puede verse alterado en hasta el 25%, bien por sobreestadificar o bien por detectar mayor extensión en la región afectada de la enfermedad. En la evaluación de una posible infiltración pulmonar, la TC de tórax es más efectiva que la resonancia magnética (RM), mientras que lo contrario sucede cuando existe invasión de la pared torácica. En el estudio del abdomen, cabe recordar que en individuos muy delgados o con escasa grasa retroperitoneal, la TC no delimita con precisión las estructuras intraabdominales, por lo que en esta situación es más útil la ecografía. Junto con la ecografía, puede ser útil para la realización de biopsias percutáneas en los casos que no sea posible la exéresis ganglionar[11].

La resonancia magnética (RM) tiene un valor limitado en la estadificación de los linfomas, y el alto coste de la misma limita su uso. La RM es preferente sobre la TC en el embarazo (evita la irradiación) y en aquellos pacientes en los que no puede utilizarse contraste por ser alérgicos al yodo. Además, es particularmente útil en la detección de alteraciones óseas, raquídeas y cerebromeníngeas. También muestra una alta sensibilidad (90-95%) en la detección de afectación de la médula ósea, aunque esta cualidad es más útil en los linfomas agresivos[12]. En los casos en los que se sospeche infiltración de la médula ósea, a pesar de biopsias medulares a ciegas negativas, y donde un resultado positivo pueda cambiar la actitud terapéutica, se debería realizar una RM para identificar áreas focales de infiltración linfomatosa. Una de las limitaciones más importantes de la RM, y también de la TC, es que el reconocimiento de la enfermedad ganglionar depende casi exclusivamente del tamaño del ganglio como indicador de cambio patológico. Asimismo, la infiltración hepática y/o esplénica inferior a 0,5 cm no es evidenciable y, a menos que existan lesiones focales, la afección hepática y/o esplénica puede pasar desapercibida, aunque en esta situación puede ser de ayuda la ecografía. Cuando la infiltración del hígado o del bazo es difusa, ninguno de estos métodos es útil.

La linfografía no tiene ningún papel actualmente en la estadificación del LNH, aunque podría detectar enfermedad hasta en el 10% de los pacientes con TC abdominal normal (ganglios retroperitoneales no aumentados de tamaño, pero de arquitectura anormal).

La gammagrafía ósea con tecnecio (^{99}Tc) puede ser útil en casos con sospecha de infiltración ósea.

La gammagrafía corporal con galio (^{67}Ga) es una técnica utilizada en el manejo de los linfomas desde hace unos 30 años, cuando se describió el depósito de citrato de galio-67 en pacientes con linfoma. Actualmente, las imágenes obtenidas mediante gammagrafía con galio han mejorado sustancialmente debido a la utilización de dosis altas de galio y de mejoras tecnológicas (gammacámaras digitales y SPECT). La importancia de esta técnica como herramienta diagnóstica radica en su capacidad de identificar masas tumorales y en diferenciar tumor viable de tumor no viable y tejido no tumoral. Se requiere un examen basal para determinar la avidez de captación del galio de cada paciente individualmente. La gammagrafía con galio es positiva en la mayoría de LNH agresivos y en el 50-80% de linfomas indolentes. La indicación más empleada es en linfomas de células grandes con enfermedad voluminosa (sensibilidad del 80-90%), situación en la que permite la evaluación de los casos en los que permanece una masa residual al finalizar el tratamiento[13]. En esta situación debería considerarse en el estudio de extensión inicial, anticipándose a situaciones futuras en las que la valoración de la respuesta será previsiblemente difícil. Otra aplicación del galio está en la evaluación precoz de la respuesta al tratamiento. Se ha observado que un galio positivo en un linfoma de células grandes después de 2-3 ciclos de quimioterapia determina una supervivencia libre de recaída muy inferior a cuando es negativo[14]. Debe señalarse, no obstante, la existencia de falsos positivos por cambios inflamatorios asociados a la necrosis y falsos negativos por fallo en la detección de la recidiva. Asimismo, la sensibilidad está en relación con la localización del tumor, y las lesiones situadas cerca del hígado y del bazo pueden no ser evidentes debido a la captación del isótopo por estos órganos. Por últi-

mo, otra utilidad de esta técnica es la detección de recaídas, independientemente de que sean del mismo grado o con transformación histológica.

Otra técnica recientemente introducida en el manejo de los pacientes con linfoma es la tomografía por emisión de positrones (PET). Se trata de una técnica de imagen de todo el cuerpo, que emplea isótopos que emiten positrones de elementos biológicos. El trazador más usado en oncología es el análogo de la glucosa 18-flúor-fluorodesoxiglucosa (FDG), que tiene una captación incrementada en las células tumorales en virtud de su aumentada transferencia de glucosa y de la glucólisis. La aplicación de esta técnica en el LNH se está incrementando rápidamente, ya que presenta una elevada sensibilidad y especificidad, aunque, por otra parte, es una técnica costosa y de limitada disponibilidad. Sin embargo, la capacidad de la PET para proporcionar imágenes corporales totales de alta calidad en una única sesión está induciendo su uso para el estudio de la extensión inicial, así como para la valoración de la respuesta al tratamiento, el estudio de masas residuales y para el seguimiento[15,16]. Los estudios que han comparado la utilidad de la TC y de la PET para el estudio de extensión en LNH han mostrado consistentemente un alto nivel de concordancia en la identificación de la enfermedad ganglionar y una mayor capacidad de la PET para detectar la enfermedad en ganglios de tamaño límite y la enfermedad extraganglionar de tejidos blandos. Comparado con la gammagrafía con ^{67}Ga, la PET permite una mejor interpretación de la afectación visceral (hígado, bazo y tracto gastrointestinal), así como del mesenterio peritoneal y, además, a diferencia de la gammagrafía, no es necesaria su realización al diagnóstico para determinar la avidez del tumor por el trazador. Asimismo, la PET ha mostrado una alta correlación con la BM (70-80%). Sin embargo, como limitaciones técnicas se han descrito falsos positivos de la PET en diversas circunstancias: tejido residual, granuloma eosinofílico, neumonía, tuberculosis, absceso y otras. El uso de la PET como prueba de primera línea en lugar de técnicas convencionales de imagen, además de mejorar la exactitud del estudio de extensión puede ser coste-efectiva, según se ha publicado recientemente en algún estudio[17]. Actualmente, existe la tecnología adecuada para obtener imágenes fusionadas de PET y TC[18].

En definitiva, todos los procedimientos descritos anteriormente en el estudio de extensión del LNH tienen como finalidad diferenciar entre enfermedad localizada y diseminada, identificar factores pronósticos individuales y poder disponer de parámetros para poder evaluar la respuesta al tratamiento (tabla 27.4)[19].

FACTORES PRONÓSTICOS

Como se ha referido anteriormente, los LNH son neoplasias que presentan una gran variabilidad en su historia natural. Así, junto a pacientes que permanecen estables durante muchos años y que incluso pueden tener remisiones de forma espontánea, otros presentan un curso más agresivo, con variable respuesta al tratamiento y, en otros pacientes, el comportamiento clínico puede ser extraordinariamente agresivo a semejanza de una leucemia aguda. Pese a que durante las últimas décadas se han utilizado tratamientos más intensivos con la intención de mejorar la proporción de remisiones, principalmente completas, la supervivencia libre de enfermedad y

TABLA 27.4

Criterios de respuesta en los linfomas no hodgkinianos

Remisión completa (RC)

1. Desaparición de cualquier evidencia detectable clínica y radiológica de la enfermedad; desaparición de todos los síntomas relacionados con la enfermedad previos al tratamiento; normalización de anomalías bioquímicas (LDH) atribuibles al linfoma
2. Regresión de todas las adenopatías y masas ganglionares al tamaño normal (≤ 1,5 cm en su mayor Ø transverso en adenopatías > 1,5 cm antes del tratamiento)
   Las adenopatías afectadas antes del tratamiento ≤ 1,5 cm deben disminuir a ≤ 1 cm después del tratamiento, o más del 75% en la suma de sus mayores Ø
3. Normalización del tamaño del bazo y del hígado en caso de aumento previo al tratamiento, y desaparición de nódulos visibles por técnicas de imagen en caso de estar presentes antes del tratamiento
4. Desaparición de la infiltración medular previa al tratamiento por comprobación con biopsia y aspirado medular (cilindro óseo ≥ 20 mm)

RC no confirmada

Criterios 1 y 3 de RC con:

Masa linfática residual > 1,5 cm en su mayor Ø transverso que haya regresado > 75% en la suma de sus mayores Ø. Regresión de adenopatías confluentes en > 75% comparado con su tamaño previo

Médula ósea de significado incierto (agregados linfoides sin atipias citológicas o de arquitectura)

Remisión parcial (RP)

1. Disminución ≥ 50% en la suma de los mayores Ø de las 6 adenopatías principales o masas ganglionares (medibles en 2 dimensiones, de distintas regiones e incluyendo mediastino y retroperitoneo en caso de afección)
2. Ausencia de aumento del tamaño de otros ganglios, hígado o bazo
3. Regresión ≥ 50% de los nódulos hepáticos y esplénicos en la suma de sus mayores Ø
4. La valoración de la afección de la médula ósea u otros órganos debe efectuarse en caso de ser positiva, especificando el tipo citológico
5. Sin aparición de nuevas localizaciones linfomatosas

Enfermedad estable

Respuesta inferior a remisión parcial, sin ser enfermedad progresiva

Recaída

1. Aparición de una nueva lesión o aumento ≥ 50% en el tamaño de localizaciones previamente afectadas
2. Aumento ≥ 50% en el mayor Ø de cualquier adenopatía mayor de 1 cm en su Ø menor o en la suma de sus mayores Ø en más de un ganglio

Enfermedad progresiva

1. Aumento ≥ 50% del nadir en la suma de sus máximos Ø de cualquier adenopatía identificada previamente como anormal en la RP o en caso de no respuesta
2. Aparición de cualquier nueva lesión durante o al final del tratamiento

Ø: diámetro. No se incluye en la definición de respuesta la citometría de flujo o los estudios citogenéticos y moleculares.

la supervivencia global, muchos pacientes todavía fallecen a consecuencia del linfoma o de las complicaciones derivadas del tratamiento. Por todo ello, el conocimiento de los factores pronósticos (FP) en los pacientes con LNH es extraordinariamente importante, ya que de esta manera se puede realizar un tratamiento cada vez más individualizado, utilizando regímenes atenuados para aquellos pacientes de bajo riesgo y seleccionando otros más intensivos o experimentales para los que presenten características de peor pronóstico.

Frente a esta realidad, numerosos investigadores y grupos clínicos han intentado averiguar qué factores o parámetros clínicos, histológicos, biológicos o de otra índole podían predecir el logro de una RC y de una larga supervivencia. La finalidad de los factores o índices pronósticos es doble: *a*) identificar el riesgo individual predecible en un paciente para aplicar un tratamiento en consecuencia (es decir, si es de alto riesgo se debe aplicar un tratamiento más agresivo, y si es de bajo riesgo, se debe atenuar el tratamiento para evitar sobretratar al paciente), y *b*) agrupar poblaciones comparables de pacientes para evaluar nuevos tratamientos, estrategias diagnósticas, etc.

Aunque los parámetros más adecuados para el análisis de FP en los LNH dependen del subtipo histológico, para generalizar identificaremos: *a*) la tasa de remisiones completas; *b*) la supervivencia libre de progresión, y *c*) la supervivencia global.

Los principales factores pronósticos de los pacientes con LNH se detallan en la tabla 27.5. Se exponen los diversos parámetros relacionados con el paciente, las características celulares y moleculares del tumor presentes en el momento del diagnóstico, y también se relacionan las variables pronósticas relacionadas con la evolución tras el tratamiento administrado. Hay que señalar que en función del tipo de LNH, unas variables tienen mayor valor predictivo y relevancia clínica que otras. Por ejemplo, la obtención de una RC o el tiempo en que ésta se alcanza es mucho más importante en un linfoma de células grandes que en un linfoma folicular, y su impacto en la supervivencia es muy distinto. De igual manera, el valor de la gammagrafía con galio a mitad del tratamiento tiene utilidad fundamentalmente en los linfomas agresivos. Sin embargo, la apariencia histológica (centroblástica e inmunoblástica) en los linfomas difusos de células grandes B sigue en controversia[20,21]. Queremos subrayar el valor del inmunofenotipo en los linfomas de células grandes, debido a que hasta hace pocos años todavía existía controversia en cuanto a su impacto clínico. Así, los linfomas T, que representan el 15% del total de linfomas agresivos, se presentan en fase más diseminada de la enfermedad, mayor frecuencia de síntomas B, más afección de médula ósea y piel, y mayor aumento de la β_2-microglobulina, en comparación a los linfomas B, que presentan mayor incidencia de enfermedad voluminosa. Gisselbrecht, en un análisis de 288 pacientes con linfoma T periférico que fueron comparados con 1.600 pacientes con linfoma B, demostró que el porcentaje de RC, supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global a los 5 años eran significativamente inferiores respecto a los linfomas B[22]. En definitiva, el fenotipo T debe considerarse como un factor de significado pronóstico adverso.

Finalmente, cabe mencionar que desde hace varias décadas se ha investigado el valor pronóstico de ciertos marcadores serológicos[23]. Así, el valor predictivo desfavorable de la elevación de la LDH y de la β_2-microglobulina al diagnóstico está bien establecido tanto en los linfomas agresivos como en los indolentes y, ambas, son unas de las variables que aportan mayor impacto pronóstico de manera individual. Otros parámetros serológicos de interés, si bien su significado pronóstico no está tan bien determinado, son la determinación de niveles séricos de ciertas citocinas (interleucina-6, receptor soluble de la interleucina-2, factor de necrosis tumoral), niveles de moléculas de adhesión celular (ICAM-1) y el antígeno carbohidratado 125.

TABLA 27.5

Factores pronósticos en los linfomas no hodgkinianos

FP iniciales

Relacionados con el paciente

- Independientes del tumor
  - Edad
  - Sexo
  - Enfermedades asociadas
- Interacción paciente-tumor
  - Estado general (ECOG)
  - Síntomas B

Dependientes del tumor

- Características biológicas
  - Subtipo celular
  - Arquitectura ganglionar
  - Inmunofenotipo (B, T o NK)
  - Índice de proliferación
  - Alteraciones citogenéticas (y moleculares)
- Masa y extensión del linfoma
  - Masa tumoral > 7-10 cm
  - Estadio Ann Arbor
  - Afectación ganglionar extensa
  - Afectación extraganglionar en más de un territorio
  - Infiltración de la médula ósea o hepática
  - Esplenomegalia
  - LDH
- β_2-microglobulina
  - Anemia y otras citopenias
  - VSG
  - Albuminemia

FP evolutivos

Dependientes del tratamiento

- Respuesta al tratamiento
- Duración de la respuesta

Relacionados con el paciente

- Edad

Dependientes del tumor

- Estadio Ann Arbor
- LDH
- Alteraciones citogenéticas (y moleculares)
- Transformación histológica

Modelos predictivos basados en los factores pronósticos clínicos pretratamiento

En la última década se ha producido un creciente interés en el desarrollo de índices o sistemas pronósticos para su aplicación en las enfermedades neoplásicas. Pese a que es imposible predecir con exactitud el curso evolutivo de un paciente en particular, la creación de un modelo predictivo mediante el cual se pueda inferir el riesgo relativo de un

paciente concreto a partir de una serie de variables presentes en el momento del diagnóstico, es de valiosa importancia en la práctica clínica diaria. Las características recomendables para un índice pronóstico deben ser su facilidad de manejo y que sea altamente reproducible.

Linfomas agresivos. Varias instituciones de Estados Unidos, Canadá y Europa participaron en un proyecto para la identificación de factores pronósticos en pacientes con linfoma agresivo que predijeran supervivencia tras tratamiento con quimioterapia que incluyera antraciclinas. Así, se identificaron cinco variables clinicobiológicas de fácil obtención y que constituyen el Índice Pronóstico Internacional (IPI). Este índice ha representado el avance más importante en la estratificación clínica en grupos de riesgo de los LNH agresivos[24], además de tener una gran aceptación. En el IPI se identifican los factores clínicos pretratamiento que predicen el porcentaje teórico de RC, recidivas y de supervivencia (tabla 27.6). La mayoría de los esquemas terapéuticos actuales fundamentados en conseguir un mayor porcentaje de RC (requisito previo indispensable para la consecución de una larga supervivencia en estos linfomas) a expensas de lograr una mayor intensidad de dosis, se diseñan para los pacientes pertenecientes a grupos de riesgo intermedio/alto y alto según el IPI, vista la escasa supervivencia lograda con esquemas de quimioterapia convencionales. Existen otros índices pronósticos, como el desarrollado por investigadores del MD Anderson, aunque es más complejo de calcular y tiene una menor aceptación por la comunidad internacional[25]. Recientemente, se ha descrito un índice pronóstico específico para linfomas T (tabla 27.7)[26].

TABLA 27.6

Índice Pronóstico Internacional para linfomas agresivos

Variables adversas	Edad > 60 años Estadio Ann Arbor III/IV ECOG ≥ 2 N.º de localizaciones extraganglionares ≥ 2 LDH > normal		
Grupo de riesgo	*N.º de variables*	*RC (%)*	*Supervivencia 5 años (%)*
Bajo	0,1	87	73
Bajo-intermedio	2	67	51
Alto-intermedio	3	55	43
Alto	4,5	44	26
IPI ajustado a la edad			
Pacientes ≤ 60 años*			
Bajo	0	92	83
Bajo-intermedio	1	78	69
Alto-intermedio	2	57	46
Alto	3	46	32
Pacientes > 60 años			
Bajo	0	91	56
Bajo-intermedio	1	71	44
Alto-intermedio	2	56	37
Alto	3	36	21

IPI: Índice Pronóstico Internacional.
*Variables adversas: estadio III/IV; ECOG ≥ 2; LDH > normal.

TABLA 27.7

Índice pronóstico para linfomas T

Variables adversas	Edad ≥ 60 años Estado general-ECOG > 1 Infiltración médula ósea LDH > normal			
Grupo de riesgo	*N.º de variables*	*Pacientes (%)*	*SG 5 años (%)*	*SG 10 años (%)*
Bajo	0	20	62	55
Intermedio-bajo	1	34	53	39
Intermedio-alto	2	26	33	18
Alto	≥ 3	20	19	13

SG: supervivencia global.

Linfomas indolentes. Diversas instituciones y centros han diseñado índices pronósticos específicos para el linfoma folicular, basados en su experiencia particular, en los que se incluyen variables de valor pronóstico contrastado. Tras la publicación del IPI para linfomas agresivos, este índice se ha aplicado a pacientes con distintos tipos de LNH (tabla 27.8)[27,28] y, en particular, para LNH folicular[29], y se ha confirmado su utilidad en identificar grupos de pacientes con diferentes respuestas y probabilidades de supervivencia, aunque sólo un pequeño porcentaje de casos está incluido en el grupo de alto riesgo (10%). Recientemente, se ha publicado un índice pronóstico diseñado por el Italian Lymphoma Intergroup (ILI)[30], y fruto de una cooperación de múltiples centros se ha desarrollado un nuevo sistema pronóstico, el Follicular Lymphoma International Prognostic Index (FLIPI) (tabla 27.9), cuya utilidad deberá ser contrastada con el IPI y el ILI en un futuro[31].

En la última década estamos asistiendo a la identificación de un gran número de factores genéticos que se relacionan con un impacto en el pronóstico, tanto en los linfomas indolentes como en los agresivos. En los linfomas foliculares (LF) se han identificado como factores genéticos adversos para la supervivencia: deleciones del cromosoma 6q25q26, deleciones del cromosoma 17p y ganancias del cromosoma 18q. También ciertos genes supresores de tumores (como el gen de p53, p21, p16, pRb) han mostrado valor pronóstico en los LF, aunque tienen un papel más relevante en la fase de transformación histológica. El estudio de expresión de genes por medio de microarrays es una nueva tecnología que ha permitido estudiar la significación pronóstica de determinados patrones de expresión de genes en los linfomas agresivos[32-34]. Así, se ha podido comprobar que la subclasificación basada en la presentación de un fenotipo o perfil génico de «centro germinal» o «no centro germinal (activado)» tiene implicación evolutiva, con mejor supervivencia en los linfomas con fenotipo de «centro germinal» frente al «activado». Recientemente, se ha comprobado que su aplicación mediante inmunohistoquímica (procedimiento más asequible tanto técnica como económicamente) también permite identificar grupos de pacientes con linfoma difuso de células grandes B que tiene una evolución clínicamente diferente[35].

TABLA 27.8

Supervivencia por tipo histológico e Índice Pronóstico Internacional

	SG* (%)		SLF* (%)	
IPI	IPI 0/1	IPI 4/5	IPI 0/1	IPI 4/5
Folicular (todos los grados)	84	17	55	6
Manto	57	0	27	0
Marginal de la zona B, MALT	89	40	83	0
Marginal de la zona B, ganglionar	76	50	30	0
Linfocítico de célula pequeña	76	38	35	13
Difuso de células grandes, B	73	22	63	19
Primario mediastínico, B	77	0	69	0
Burkitt *like*	71	0	71	0
Linfoblástico, T	29	40	29	40
T periférico (todos los subtipos)	36	15	27	10
Anaplásico de células grandes T/nulo	81	83	49	83

IPI: Índice Pronóstico Internacional; SG: supervivencia global; SLF: supervivencia libre de fallo (tiempo desde el diagnóstico hasta la progresión, recaída después de la respuesta o fallecimiento por cualquier causa).
*A los 5 años.

TABLA 27.9

Índice Pronóstico Internacional para linfomas foliculares (FLIPI)

Variables adversas	Edad ≥ 60 años
	Estadio de Ann Arbor III/IV
	Hemoglobina ≤ 120 g/L
	N.º de áreas ganglionares ≥ 5
	LDH > normal

Grupo de riesgo	*N.º de variables*	*Pacientes (%)*	*SG 5 años (%)*	*SG 10 años (%)*
Bajo	0,1	36	91	71
Intermedio	2	37	78	51
Alto	≥ 3	27	53	36

SG: supervivencia global.

TRATAMIENTO DE LOS LINFOMAS NO HODGKINIANOS

En general y desde la perspectiva clínica, la estrategia terapéutica en los LNH ha sido establecida clásicamente basándose en la combinación de la conducta clínica del linfoma (indolente, agresiva o muy agresiva) y de su estadificación (estadios localizados I y II, y estadios diseminados III y IV). Actualmente, existen muchas más variables implicadas en la decisión del tratamiento que se realizará, entre las que cabe destacar: diagnóstico específico histológico, inmunofenotipo, expresión de antígenos, alteraciones citogenéticas o moleculares, implicación patogénica de virus, factores pronósticos y la voluntad del paciente. De esta forma, con los conocimientos actuales es evidente que se hace más compleja la elección del tratamiento más adecuado pero, por otra parte, esto ha contribuido a mejorar la supervivencia en muchos de los pacientes diagnosticados de linfoma en la última década.

Linfomas indolentes

Los linfomas considerados indolentes y de acuerdo con la frecuencia establecida por la clasificación de la OMS comprenden el linfoma folicular (15-22% del total de LNH), el linfoma de linfocitos pequeños/leucemia linfática crónica B (6-7%), el linfoma linfoplasmacítico (2-6%) y el linfoma de la zona marginal ganglionar (1-2%). Las características clínicas y tratamiento de los linfomas MALT se describen en el Capítulo 26.

Estadios localizados

El primer aspecto que se debe considerar en el tratamiento de los estadios I y II de los linfomas indolentes es, precisamente, su infrecuente presentación clínica localizada. Sólo el 10 al 15% de los linfomas foliculares, el 5% de los linfomas linfoplasmacíticos y el 12-19% de los linfomas del manto se hallan clínicamente localizados en el momento del diagnóstico. Esta aparente localización en el estudio de extensión siempre debe interpretarse con precaución, al ser precisamente una constante clínica de los linfomas indolentes el hecho de presentarse en estadios avanzados. En ocasiones, podría estar indicada la práctica de una biopsia medular bilateral.

La radioterapia (RT) es un tratamiento potencialmente curativo para los pacientes con LNH indolente. Varios estudios han mostrado que la RT administrada en el campo afectado y en dosis de 35-45 Gy consigue una supervivencia libre de progresión del 35-55% a los 5 años. En este contexto, la experiencia del grupo de Stanford sobre 177 pacientes en estadios I y II tratados con RT en el campo afectado indica que la mediana de supervivencia es de 14 años y la supervivencia libre de progresión a los 10, 15 y 20 años es del 44, 40 y 37%, respectivamente. Aproximadamente la mitad de los pacientes recayeron en un tiempo mediano de 3,3 años. Las recaídas a distancia del campo irradiado se produjeron en el 80% de casos, y dentro del mismo, en sólo el 5%. Únicamente el 10% de los pacientes que permanecían libres de recaída a los 10 años presentaron posteriormente recaí-

da[36]. La utilización de RT de campo extendido no ofrece mayor supervivencia, pero es más tóxica y aumenta el riesgo de segundas neoplasias, por lo que no se considera una buena opción actualmente. Por el contrario, recientemente se han comunicado unos excelentes resultados con el empleo de RT del campo afectado en dosis bajas (4 Gy)[37]. Se han realizado intentos de aumentar la proporción de pacientes que son potencialmente curables con la adición de quimioterapia (QT) a la RT del campo afectado. Con esta estrategia, se ha conseguido aumentar el porcentaje de remisiones completas a más del 95% y se obtienen supervivencias libres de progresión entre el 45 y el 76% a los 10 años[38]. Parece que esta actitud consigue, como mínimo, retrasar las recaídas (probablemente, por eliminar enfermedad no detectada mediante estadificación clínica), pero no hay consenso en cuanto a la prolongación de la supervivencia global, motivo por el cual no debe considerarse por el momento como tratamiento estándar.

Debido a que la mayoría de los pacientes tratados con RT del campo afectado recaen dentro de los primeros 5 años y que un considerable número de pacientes consigue una prolongada duración de la remisión, es posible considerar que en algunos casos el linfoma folicular localizado es una enfermedad potencialmente curable.

Estadios avanzados

La enfermedad avanzada (estadios III-IV) representa la situación clínica más frecuente en los pacientes con linfoma indolente (más del 80%) y, en la mayoría de casos, se debe a afección de la médula ósea.

El tratamiento de los linfomas indolentes en estadios avanzados se puede clasificar en tratamiento de los linfomas foliculares y otros linfomas considerados indolentes.

Tratamiento de los linfomas foliculares

Cuando el clínico se enfrenta con la decisión de cuál es el mejor y más adecuado tratamiento para un enfermo en estadio avanzado, debe recordar que los linfomas foliculares tienen unas determinadas características clínicas e historia natural, como se expone en la tabla 27.10. De ésta se desprende que el perfil del paciente corresponde, en la mayoría de casos, a un individuo de más de 50 años, con buen estado general, poliadenopatías, una previsible buena respuesta inicial a la quimioterapia y una prolongada supervivencia, pero que probablemente fallecerá a causa de su enfermedad.

TABLA 27.10

Características clínicas de los linfomas centrofoliculares

20-30% de todos los LNH y 70% del total de LNH indolentes
Mediana de edad, 55 años
Presentación clínica ganglionar
Más de 2/3 de los pacientes en estadios avanzados (III y IV)
Curso clínico indolente
Quimiosensibles, pero incurables en estadios avanzados
Recaídas constantes después de la RC
Frecuente transformación a histología difusa (20-50%)
Mediana de supervivencia de 8 a 10 años

LNH: linfomas no hodgkinianos; RC: respuesta completa.

En el momento actual ningún tratamiento convencional parece capaz de curar a estos pacientes, y por ello la indicación fundamental del tratamiento consiste en aliviar la sintomatología[39]. Debido a que no existe un tratamiento muy superior sobre los demás, las diferentes estrategias terapéuticas que oscilan desde la abstención a la quimioterapia intensiva están todas vigentes (tabla 27.11). Por tanto, en el tratamiento de un paciente con linfoma folicular debe imperar siempre el sentido clínico y se debe tener en cuenta que: *a*) el prolongado curso clínico de la enfermedad se caracteriza por múltiples remisiones y recaídas; *b*) la enfermedad en estadios avanzados es, probablemente, incurable y la mayoría de pacientes mueren por linfoma; *c*) debe descartarse siempre la presencia de transformación histológica, y *d*) la intensidad del tratamiento de rescate debe ajustarse a las perspectivas de vida del paciente. A continuación, se describen las diferentes posibilidades de tratamiento de los linfomas foliculares, y en la tabla 27.12, las indicaciones que determinan una actitud terapéutica activa.

TABLA 27.11

Estrategias terapéuticas en estadios avanzados de los linfomas foliculares

Tratamiento diferido (en pacientes seleccionados)
Irradiación linfoide
Quimioterapia
Monoquimioterapia (alquilantes)
Poliquimioterapia: ± antraciclinas
combinadas con interferones
Análogos de las purinas ± otros quimioterápicos
Anticuerpos monoclonales ± quimioterapia
Trasplante de progenitores hematopoyéticos
Radioinmunoterapia
Terapia génica

TABLA 27.12

Indicaciones para iniciar tratamiento en los linfomas foliculares

Síntomas locales por enfermedad progresiva o enfermedad nodal voluminosa
Citopenias por infiltración medular o por hiperesplenismo
Compromiso de función de órganos debido a enfermedad progresiva o voluminosa
Síntomas B
Enfermedad extraganglionar sintomática
Progresión de la enfermedad
Transformación histológica
Voluntad del paciente

Tratamiento diferido

Esta actitud está justificada por la ausencia de tratamientos curativos en la enfermedad diseminada y por la edad avanzada de la población afectada. Es aplicable a pacientes que no presentan síntomas ni afectación de órganos vitales. Las ventajas de esta actitud residen en retrasar la exposición a la

quimioterapia, con lo que se prolonga el tiempo sin exponer al paciente a toxicidades, y se evita también la selección de células resistentes, pero se requiere un paciente informado y colaborador, además de tener que realizar un seguimiento más frecuente.

Varios estudios, tanto retrospectivos como prospectivos, han mostrado una supervivencia similar entre el seguimiento expectante y el uso de tratamiento inmediato (monoquimioterapia, poliquimioterapia, interferón)[40-42].

Recientemente, un estudio prospectivo en un grupo de 309 pacientes con linfomas indolentes y con un seguimiento de 16 años ha demostrado que no existen diferencias en términos de supervivencia entre el tratamiento diferido y el inmediato. De forma global, a los 10 años de seguimiento no se necesitó iniciar tratamiento en el 19% de los casos incluidos en el brazo de observación, y esta proporción aumentó al 40% en el grupo de mayores de 70 años. Por otra parte, se consiguió retrasar el inicio de la quimioterapia en unos 31 meses, aunque el 25% la necesitó durante el primer año de seguimiento. Estos resultados avalan que esta actitud sigue vigente, y está especialmente indicada en los pacientes con más de 70 años[43].

Radioterapia

La irradiación linfoide total y la irradiación corporal total han sido utilizadas como posibles alternativas a la quimioterapia en pacientes con linfoma folicular en estadios avanzados. Si bien se logran tasas de remisión considerables, suelen conllevar una toxicidad medular que, luego, compromete la posterior administración de citostáticos, así como la posibilidad de aparición de un síndrome mielodisplásico iatrogénico. Como los resultados son comparables a los de la quimioterapia, la radioterapia de los estadios avanzados ha perdido progresivamente protagonismo en los últimos años y, en general, no se contempla como primera opción terapéutica.

Quimioterapia

La *monoquimioterapia* con agentes alquilantes (clorambucilo, ciclofosfamida) consigue hasta el 50-70% de respuestas, y es habitualmente bien tolerada (tabla 27.13). El clorambucilo tiene ventajas sobre la ciclofosfamida, como la ausencia de alopecia y de efectos secundarios gastrointestinales y urológicos. La adición de corticoides a los alquilantes no mejora los resultados. La duración de la respuesta con monoquimioterapia se sitúa entre 18 y 24 meses, y la mediana de supervivencia es de unos 7 años.

La *poliquimioterapia* es el tratamiento de elección para pacientes con gran carga tumoral, síntomas B, disfunción visceral, crecimiento ganglionar rápido o cuando se necesita una rápida respuesta. Se obtiene una mayor tasa de respuestas (54 a 88%) y de RC (64%), y de manera más precoz que con monoterapia. La combinación CVP, propuesta por Bagley en 1972 es muy efectiva (tabla 27.13). En un intento de mejorar los resultados se diseñaron combinaciones más agresivas. Así, la adición de antraciclinas (adriamicina), como en esquemas tipo CHOP, u otros regímenes más intensivos, aunque son más tóxicos tampoco han demostrado prolongar la supervivencia[44-46]. Por tanto, basándose en los estudios aleatorizados prospectivos que han comparado monoterapia con poliquimioterapia, se puede concluir que aunque se obtiene una mayor proporción de remisiones completas, los regímenes más intensivos no prolongan significativamente la duración de las respuestas ni la supervivencia global.

El tratamiento de mantenimiento con quimioterapia no se considera útil, ya que, aunque puede retrasar las recaídas, no mejora la supervivencia global. Además, la exposición prolongada a agentes alquilantes puede originar mielodisplasia, y también puede comprometer una posterior recogida de progenitores hematopoyéticos.

Los *análogos de las purinas* (fludarabina, cladribina) han demostrado una considerable acción en el tratamiento de los linfomas indolentes. La fludarabina ha sido el fármaco de esta categoría más utilizado, tanto en el tratamiento de recaídas como en primera línea. En pacientes no tratados previamente, la monoterapia con fludarabina (tabla 27.13) obtiene unas respuestas globales del 70% (RC del 40%)[47]. Un reciente estudio aleatorizado ha demostrado que la fludarabina consigue el doble de remisiones completas y una prolongación de la duración de la remisión de 3 meses cuando se comparó con ocho ciclos de CVP, sin aumentar las toxicidades importantes[48]. Cuando se asocia con otros citostáticos (tabla 27.13), se obtienen mayores tasas de respuestas globales (90-100%) y completas (80%), con una supervivencia libre de progresión a los 5 años del 45-55%[49]. La fludarabina es bien tolerada, pero tiene un riesgo aumentado de infecciones oportunistas por causar disfunción de células T, especialmente si se usa en combinación con otros fármacos. Otro problema que se debe considerar es su mielotoxicidad, con el potencial problema de recolección de progenitores hematopoyéticos si se requiere un trasplante autólogo.

Con la 2-clorodeoxiadenosina se dispone de menos experiencia, aunque no se han descrito diferencias con la fludarabina en cuanto a la tasa de respuestas globales.

Interferón

El interferón (IFN) es una citocina con múltiples funciones (antiproliferativas, inmunomoduladoras, antiangiogénicas, etc.) que ha demostrado tener por sí solo actividad antitumoral en el linfoma folicular. Su acción se ha estudiado cuando se ha asociado con poliquimioterapia durante la inducción o como tratamiento de mantenimiento después de haber conseguido una buena respuesta clínica.

Utilizado en el tratamiento de inducción combinado con quimioterapia, se ha mostrado un impacto favorable en la supervivencia libre de progresión, pero en la mayoría de estudios no se ha mejorado la supervivencia global. Cuando se administra como tratamiento de mantenimiento tras quimioterapia, aunque los estudios son más heterogéneos y están seleccionados, también parece existir un efecto beneficioso en cuanto a retrasar la progresión[50,51].

El modesto impacto favorable que puede tener el interferón podría estar sobrepasado por los efectos secundarios que origina, fundamentalmente fatiga y cuadro seudogripal, aunque podría ser beneficioso independientemente de su perfil de toxicidad.

Anticuerpos monoclonales

Uno de los avances de mayor impacto en el tratamiento de los LNH ha sido la incorporación de los anticuerpos monoclonales. El anticuerpo monoclonal desarrollado con más éxito hasta la fecha es el anticuerpo monoclonal humanizado quimérico frente al antígeno CD20, denominado rituximab. El antígeno CD20 es una excelente diana, ya que se encuentra expresado en más del 95% de los LNH de células B. El modo de actuación de rituximab es múltiple, y destaca: cito-

TABLA 27.13

Esquemas de poliquimioterapia en LNH

	Dosis	Días	Frecuencia
Clorambucilo	10 mg/m² v.o.	1.º al 14.º	Cada 28 días
± Prednisona	10 mg/m² v.o.	1.º al 14.º	
Ciclofosfamida	400 mg/m² v.o.	1.º al 5.º	Cada 28 días
± Prednisona	10 mg/m² v.o.	1.º al 5.º	
Fludarabina	25 mg/m² i.v.	1.º al 5.º	Cada 28 días
	o 40 mg/m² v.o.	1.º al 5.º	
Ciclofosfamida[1]	400 mg/m² i.v.	1.º al 5.º	Cada 21 días
Vincristina	1,4 mg/m² i.v.	1.º	
Prednisona	100 mg/m² v.o./i.v./i.m.	1.º al 5.º	
Ciclofosfamida	750 mg/m² i.v.	1.º	Cada 21 días
H adriamicina	50 mg/m² i.v.	1.º	
O vincristina	1,4 mg/m² i.v.	1.º	
Prednisona	100 mg v.o. (dosis total)	1.º al 5.º	
Metotrexato*	200 mg/m² i.v.	8.º y 15.º	Cada 21 días
Bleomicina	4 mg/m² i.v.	1.º	
Adriamicina	45 mg/m² i.v.	1.º	
Ciclofosfamida	600 mg/m² i.v.	1.º	
O vincristina	1,0 mg/m² i.v.	1.º	
Dexametasona	6 mg/m² v.o./i.m.	1.º al 5.º	
*Seguido 24 h más tarde de folínico 10 mg/m² cada 6 h × 6 dosis			
Pro prednisona	60 mg/m² v.o./i.m.	1.º al °4.º	Cada 21 días
Metotrexato*	120 mg/m² i.v.	8.º	
Adriamicina	25 mg/m² i.v.	1.º	
Ciclofosfamida	650 mg/m² i.v.	1.º	
Etopósido	120 mg/m² i.v.	1.º	
Cyta citarabina	300 mg/m² i.v.	8.º	
Bleomicina	5 mg/m² U i.v.	8.º	
O vincristina	1,4 mg/m² i.v.	8.º	
*Seguido 24 h más tarde de folínico 10 mg/m² cada 6 h × 6 dosis			
Metotrexato*	400 mg/m² i.v.	Semanas 2.ª, 6.ª, 10.ª	
Adriamicina	50 mg/m² i.v.	Semanas 1.ª, 3.ª, 5.ª, 7.ª, 9.ª, 11.ª	
Ciclofosfamida	350 mg/m² i.v.	Semanas 1.ª, 3.ª, 5.ª, 7.ª, 9.ª, 11.ª	
O vincristina	1,4 mg/m² i.v.	Semanas 2.ª, 4.ª, 6.ª, 8.ª, 10.ª, 12.ª	
Prednisona	75 mg v.o. (dosis total)	Diaria durante todo el tratamiento	
Bleomicina	10 mg/m² i.v.	Semanas 4.ª, 8.ª, 12.ª	
*100 mg/m² bolo i.v., 300 mg/m² en perfusión de 4 h, seguida 24 h más tarde de folínico 10 mg/m² cada 6 h × 6 dosis			
VP-16	150 mg/m² i.v.	Semanas 2.ª, 6.ª	
N mitoxantrona	10 mg/m² i.v.	Semanas 1.ª, 3.ª, 5.ª, 7.ª	
Ciclofosfamida	300 mg/m² i.v.	Semanas 1.ª, 3.ª, 5.ª, 7.ª	
O vincristina	2 mg i.v. (dosis total)	Semanas 2.ª, 4.ª, 6.ª, 8.ª	
Bleomicina	10 mg/m² i.v.	Semanas 4.ª, 8.ª	
Prednisona	40 mg v.o. (dosis total)	Diaria, dosis progresivamente reducidas en las 2 últimas semanas	

(Continúa)

TABLA 27.13

Esquemas de poliquimioterapia en LNH (*Cont.*)

	Dosis	Días	Frecuencia
Hyper-CVAD/altas dosis metotrexato-citarabina:			
1.er ciclo			
Ciclofosfamida	300 mg/m²/12 h i.v., 6 dosis	1.° al 3.°	
Vincristina	2 mg i.v. 12 h después de la ciclofosfamida	4.° y 11.°	
Adriamicina	50 mg/m² en infusión continua durante 48 h	4.° al 5.°	
Dexametasona	40 mg i.v./v.o. (dosis total)	1.° al 4.° 11.°al 14.°	
2.° ciclo			
Metotrexato*	1.000 mg/m² i.v.	1.°	
Citarabina**	3.000 mg/m²/12 h i.v.,	2.° y 3.°	
*200 mg/m² bolo i.v., seguido de infusión de 800 mg/m² en 24 h Folínico 50 mg v.o. a iniciar 24 h después de la infusión de metotrexato, seguido 6 h después por 15 mg v.o. cada 6 h, 8 dosis **En pacientes > 60 años o con creatinina > 1,5 mg/dL: citarabina 1 g/m²			
CHOP intensificado o «MegaCHOP»:			
Ciclofosfamida	2.000 mg/m² i.v.	1.°	Cada 21 días
+ MESNA 150% de la dosis de ciclofosfamida repartida en 3 dosis a 1,4 y 8 h de infusión de la ciclofosfamida			
H adriamicina	90 mg/m² i.v.	1.°	
O vincristina	1,4 mg/m² i.v.	1.°	
Prednisona	60 mg/m² i.v./v.o.	1.° al 5.°	
Etopósido	50 mg/m² i.v. en infusión continua durante 24 h	1.° al 4.°	Cada 21 días
Prednisona	60 mg/m²/12 h	1.° al 5.°	
O vincristina	0,4 mg/m² i.v. en infusión continua durante 24 h	1.° al 4.°	
Ciclofosfamida	750 mg/m²	5.°	
H adriamicina	10 mg/m² en infusión continua durante 24 h	1.° al 4.°	
Fludarabina	25 mg/m² i.v.	1.°, 2.° y 3.°	Cada 28 días
Ciclofosfamida	200 mg/m² i.v.	1.°, 2.° y 3.°	
Mitoxantrona	6 mg/m² i.v.	1.°	
Rituximab[2]			
Premedicación: paracetamol + difenhidramina			
Rituximab: 375 mg/m² i.v. semanal durante 4 semanas			
Ritmo de infusión:			
1.ª administración: 50 mg/h, incrementos de 50 mg/h cada 30 minutos hasta un máximo de 400 mg/h			
Posteriores administraciones: 100 mg/h, incrementos de 100 mg/h cada 30 minutos hasta un máximo de 400 mg/h			

LNH: linfoma no hodgkiniano.

[1]Existen varias dosificaciones en la literatura para la ciclofosfamida del CVP/COP.

[2]La administración de rituximab en combinación con quimioterapia depende de los esquemas, pero generalmente se administra inmediatamente antes de la quimioterapia o bien el día anterior.

toxicidad por activación del complemento, citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo e inducción de apoptosis. La mayor toxicidad del rituximab está relacionada con su infusión, y los síntomas más frecuentes son fiebre, escalofríos e hipotensión, asociados usualmente a la primera infusión.

La administración de rituximab en monoterapia en pacientes con linfoma folicular no tratados obtiene unas respuestas globales del 47-73% y RC del 7-20%[52,53], dependiendo de la carga tumoral del paciente. En combinación con quimioterapia en primera línea, varios estudios en fase II han mostrado unos resultados muy buenos, con respuestas del 70-100% y RC del 40-80%[54]. Recientemente, se ha observado en un ensayo aleatorizado multicéntrico que ha comparado quimioterapia con CVP con o sin la adición de rituximab, que con una mediana de seguimiento de 18 meses, el tiempo para el fallo del tratamiento fue significativamente más prolongado con la adición del rituximab (7 frente a 27 meses). Con el seguimiento actual, no se ha observado ventaja en la supervivencia global[55].

El tratamiento de mantenimiento con rituximab obtiene una mayor supervivencia libre de progresión respecto a la observación en aquellos pacientes que no progresan con el tratamiento de inducción, ya sea quimioterapia o rituximab. Sin embargo, debido al corto seguimiento de las series, todavía no se puede evaluar con certeza su efecto sobre la supervivencia global[53,56].

Otras posibilidades de aumentar el potencial citolítico de los anticuerpos monoclonales son conjugándolos a inmunotoxinas o a radioisótopos (^{131}-yodo o ^{90}-itrio)[57]. Los conjugados con inmunotoxinas están en fase experimental y, por el momento, no están disponibles. Sin embargo, los conjugados con radionúclidos unidos a anti-CD20 ya han sido aprobados para su uso clínico en Estados Unidos (Zevalin en 2002 y Bexxar en 2003). Actualmente, su indicación está principalmente enfocada en el tratamiento de pacientes en recaída o refractarios, y su papel se tratará posteriormente.

Trasplante de progenitores hematopoyéticos

La justificación para el empleo de quimioterapia en dosis altas asociadas o no a radioterapia y rescate con infusión de células hematopoyéticas progenitoras se basa en que un aumento de la dosis se asocia, generalmente, con una mayor tasa de respuestas, aunque a costa de una mayor toxicidad. Actualmente, la mortalidad relacionada con el trasplante autólogo es inferior al 5%, debido fundamentalmente al empleo de células hematopoyéticas progenitoras obtenidas de sangre periférica, y a la experiencia acumulada en este procedimiento de la mayoría de centros.

Las características de los pacientes y la situación de la enfermedad son diferentes a las de los linfomas agresivos, principalmente debidas a la mayor edad de los pacientes y la mayor proporción de infiltración de la médula ósea.

Varios estudios han analizado el papel del autotrasplante en el tratamiento de primera línea del linfoma folicular, utilizando diferentes combinaciones de quimioterapia o quimiorradioterapia y, generalmente, con el purgado *in vitro* (con anticuerpos monoclonales o quimioterapia) del material recolectado tanto de médula ósea como de sangre periférica[58-60]. Con este procedimiento se consigue una elevada tasa de remisiones completas, y una prolongación de la supervivencia libre de progresión, pero no se obtiene beneficio significativo en cuanto a supervivencia global. Las curvas de supervivencia no muestran meseta, debido a que la mayoría de pacientes continúan recayendo[58]. Además, existe un riesgo aumentado de síndrome mielodisplásico/leucemia aguda secundaria y de segundas neoplasias, por lo que el posible beneficio del trasplante puede verse contrarrestado. A pesar de todo, se ha confirmado en un estudio aleatorizado que el trasplante es más beneficioso que el interferón en aquellos pacientes que responden a la QT, y algunos pacientes tienen una supervivencia prolongada, estando potencialmente curados[61]. Recientemente, se ha observado que el empleo de quimioinmunoterapia con CHOP más rituximab podría ofrecer el mismo beneficio que el trasplante autólogo.

El trasplante alogénico es un tratamiento potencialmente curativo en pacientes con linfoma folicular. Sus ventajas son la ausencia de contaminación del material a infundir y el demostrado efecto del injerto frente al linfoma folicular. Su principal problema es la alta morbilidad y mortalidad asociada, por lo que actualmente no es una opción estándar que se considere en el tratamiento de primera línea, incluso aunque se utilicen regímenes de intensidad reducida (minialotrasplantes).

Aspectos especiales

Un aspecto particularmente difícil en cuanto a actitud terapéutica es el del *paciente joven* con linfoma folicular. Al respecto, la experiencia del grupo de Stanford en 188 pacientes de 50 años o menos en estadios III y IV ha demostrado que, con una mediana de seguimiento de 10 años, la supervivencia global a los 10 y 15 años es del 63 y 45%, respectivamente. Además, la supervivencia de los tratados respecto a los no tratados inmediatamente no fue diferente, aunque la consecución de una RC en los tratados inmediatamente se asoció con una mayor mediana de supervivencia (el 76 frente al 40% a los 10 años). La conclusión de este análisis retrospectivo es que los linfomas foliculares en pacientes jóvenes constituyen un grupo heterogéneo, y que los factores pronósticos y la respuesta al tratamiento son determinantes en la supervivencia[62]. De esta manera, es aconsejable una adecuada información al paciente, y decidir la estrategia de acuerdo con el mismo, y si es posible dentro de estudios clínicos.

Actualmente, existe consenso respecto a que existen diferencias menores en la historia natural y la respuesta al tratamiento de los linfomas foliculares *grado 1 y 2*, que no son relevantes para adoptar actitudes terapéuticas diferentes. A diferencia, los LF *grado 3*, que suponen el 10% del total, presentan un comportamiento clínicamente más agresivo, parecido al de los linfomas difusos de células grandes B. La actitud terapéutica y el pronóstico es similar al de éstos, si bien en su evolución tienen una mayor tasa de recidivas[63,64].

Otro aspecto que cabe señalar es que el *reordenamiento del gen bcl-2*, que constituye un hallazgo característico de los LF, aunque no exclusivo (se observa en el 80-90% de casos) se ha descrito como un hecho favorable, desfavorable o indiferente para la evolución de los pacientes con LF. Además, la localización del punto de rotura del gen *bcl-2* podría tener valor pronóstico, según un trabajo realizado en el M.D. Anderson de Houston[65]. Los casos con el punto de rotura en la región *major breakpoint region* (MBR) tendrían una evolución estándar, mientras que aquellos con el punto de rotura en la región *minor cluster region* (mcr) se presentarían en estadios precoces, con baja carga tumoral, y tendrían una elevada supervivencia libre de progresión. Los casos con reordenamiento no detectable (reordenamiento en línea germinal) se presentarían en estadios avanzados, la respuesta al tratamiento sería menor y las recaídas, más precoces, por lo que presentarían un pronóstico más desfavorable. Sin embargo, publicaciones recientes no han podido corroborar estos hallazgos[66], por lo que todavía es difícil extraer conclusiones definitivas.

Por último, la *respuesta terapéutica obtenida* con el tratamiento inicial es un factor pronóstico importante, aunque en LF el concepto de remisión completa clínica (RCC) puede traducir la imposibilidad de demostrar la enfermedad residual que sí puede ponerse de manifiesto con métodos más sensibles. Así, el pronóstico de los LF que alcanzan la RCC es mejor que el de aquellos que sólo logran una respuesta parcial (RP), y aquellos pacientes que no alcanzan siquiera una RP tienen un pronóstico muy desfavorable con supervivencias inferiores a dos años en la mayoría de casos. También se ha estudiado el valor pronóstico de la respuesta, cuando ésta se valora mediante técnicas más sensibles. Así, un trabajo del grupo del M.D. Anderson[67] que evaluó la respuesta molecular observó que aquellos LF que alcanzaron una respuesta completa molecular (RCM) presentaron una supervivencia libre de progresión significativamente superior a los que no alcanzaron dicha respuesta, aunque no se observaron dife-

rencias en cuanto a la supervivencia global. No obstante, otros dos estudios han detectado la presencia de células clonales mediante PCR en pacientes que se encontraban en RCC tras quimioterapia convencional, y en estos casos la duración de la remisión a largo plazo fue posible. Tampoco otro trabajo pudo correlacionar la RCC con la eliminación de células linfoides clonales en sangre periférica. El tratamiento con anticuerpos monoclonales asociados o no a quimioterapia obtiene una mayor tasa de RCM, aunque actualmente su valor pronóstico está en fase de observación. Así pues, faltan estudios que definan con más precisión el valor de la RCM tras quimioterapia sola o combinada con anticuerpos monoclonales.

Tratamiento de otros linfomas indolentes

En el tratamiento de los pacientes con *linfoma de linfocitos pequeños/leucemia linfática crónica* y *linfoma linfoplasmacítico* se siguen en general las mismas estrategias que en los linfomas foliculares[68]. La mayoría de estudios terapéuticos han incluido estas entidades, por lo que los resultados son extrapolables, aunque hay que destacar que se obtienen menores tasas de remisiones, sobre todo completas, incluso cuando se administra quimioinmunoterapia.

El *linfoma esplénico con linfocitos vellosos circulantes/linfoma esplénico de la zona marginal* tiene un curso clínico indolente, con evolución progresivamente gradual[69]. El tratamiento para los pacientes sin síntomas derivados de la esplenomegalia o del hiperesplenismo puede ser únicamente un estrecho seguimiento clínico, como en algunos linfomas foliculares. En enfermos sintomáticos, la esplenectomía es la primera opción, pues, aparte de corregir el hiperesplenismo, puede disminuir la linfocitosis. Si el linfoma progresa pese a la esplenectomía, los alquilantes o la fludarabina pueden controlar el curso de la enfermedad. Debido a su patogenia relacionada con el virus de la hepatitis C, se han comunicado varios casos de regresión del linfoma asociado o no con crioglobulinemia tipo II, con tratamiento frente al virus (interferón con o sin ribavirina). La radioterapia esplénica en dosis bajas (4 Gy) constituye una opción razonable en los casos en los que hay contraindicación de quimioterapia. Aproximadamente, el 5% de pacientes puede sufrir una transformación a un linfoma de células grandes (de forma similar al síndrome de Richter en la LLC). En dicha situación, se debe de escoger una quimioterapia para linfoma agresivo (CHOP más rituximab).

No se dispone de gran experiencia en el tratamiento del *linfoma de la zona marginal ganglionar*[70]. En comparación con el linfoma MALT extraganglionar, es más agresivo y presenta una menor supervivencia global y libre de enfermedad. Un 15-20% de casos también pueden transformarse a un linfoma de células grandes.

Linfomas agresivos

Los linfomas clínicamente agresivos comprenden el 40-50% del total de LNH y, según la clasificación REAL/OMS, están representados en su gran mayoría por los linfomas de células grandes B, y en menor proporción por los linfomas T periféricos. El linfoma del manto, aunque clásicamente incluido en el grupo de linfomas indolentes, tiene un comportamiento agresivo, por lo que creemos más oportuno su descripción en esta sección.

Para decidir el tratamiento apropiado para un paciente con linfoma agresivo, el clínico debe aplicar los principios que se exponen en la tabla 27.14.

TABLA 27.14

Variables a considerar en el tratamiento de los linfomas agresivos

Tipo histológico (difuso de células grandes, del manto, etc.)
Inmunofenotipo, con la identificación de la expresión del antígeno CD20 y del patrón de centro germinal frente a activado
Índice Pronóstico Internacional
Comorbilidades presentes
Potenciales emergencias oncológicas
Previsión de toxicidades hematológicas
Valorar siempre su posible inclusión en ensayos clínicos

Tratamiento de los linfomas difusos de células grandes B

Constituyen el grupo más frecuente en nuestro medio, y agrupan hasta casi un tercio de los LNH. Se trata de un grupo heterogéneo desde el punto de vista morfológico y también biológico. En la tabla 27.15 se exponen las principales características clínicas de los pacientes con linfoma de células grandes. La subdivisión basada en criterios morfológicos tiene poca relevancia desde el punto de vista clínico. Recientemente, se ha demostrado que el patrón de expresión de genes, identificado mediante técnicas de microarrays y de inmunohistoquímica, puede identificar grupos de pacientes con diferente respuesta al tratamiento.

TABLA 27.15

Características clínicas de los linfomas de células grandes

25-40% de todos los LNH
Incidencia a cualquier edad
Presentación clínica ganglionar o extraganglionar (30-40%)
Frecuente repercusión en el estado general del paciente
Mayor frecuencia de estadios localizados que los centrofoliculares (30%)
Historia natural agresiva, pero quimiosensibles
Recaídas < 10% después de 3 años en RC mantenida
En ocasiones, antecedentes previos de un linfoma indolente (folicular o MALT)
Supervivencia aproximada del 40-50% a largo plazo

Estadios localizados

El 30% de los pacientes con linfoma de células grandes B se presenta en estadios I y II. Actualmente, es importante considerar los factores pronósticos para enfermedad localizada (p. ej., IPI modificado). Clásicamente, el tratamiento ha sido la radioterapia, que obtenía supervivencias a los 5 años del 60% para estadios I, y del 25-40% para estadios II. Estos resultados mejoraron considerablemente con la adición de quimioterapia. En la actualidad, existen dos tendencias

de tratamiento: la combinación de quimioterapia con antraciclinas y radioterapia, y la quimioterapia con antraciclinas exclusivamente. Así, los principales estudios en este contexto son: *a*) el grupo SWOG comparó tres ciclos de CHOP y posterior radioterapia frente a ocho ciclos de CHOP exclusivamente[71]; *b*) el grupo ECOG estudió ocho ciclos de CHOP con la posterior adición o no de radioterapia[72], y *c*) el grupo GELA valoró un régimen de quimioterapia más intensivo que el CHOP (ACVBP) frente a tres ciclos de CHOP más radioterapia[73].

Aunque la población de pacientes y los diseños de los estudios son diferentes, se puede concluir que: *a*) la adición de radioterapia altera el patrón de las recaídas, pero no la supervivencia global; *b*) existe una gran importancia pronóstica en función de los factores de riesgo (FR); *c*) los pacientes en estadios I y II sin FR tienen una buena evolución si son tratados con QT breve más RDT (3 ciclos de CHOP más radioterapia del campo afectado) o bien con QT sola (6 u 8 ciclos de CHOP); *d*) el grupo de riesgo intermedio tiene, a largo plazo, una supervivencia similar si el tratamiento es de 3 ciclos de CHOP más radioterapia o bien 8 ciclos de CHOP con o sin radioterapia, y *e*) los pacientes con enfermedad voluminosa tienen un pronóstico similar a los linfomas agresivos avanzados, y presentan una mejor supervivencia con esquemas más agresivos (mejor ACVBP que CHOP más radioterapia) (tabla 27.16).

TABLA 27.16

Grupos de riesgo y supervivencia en linfoma agresivo localizado

Estadio clínico	IPI modificado	Supervivencia global a 5 años
I, IE	0	≥ 90%
I, IE, II, IIE	≥ 1	70%
II *bulky*, IIE *bulky*	Cualquiera	50%

Estadios diseminados

En la primera mitad de la década de 1960, la supervivencia a los 5 años era sólo del 5%. Actualmente, los tratamientos de primera línea consiguen el 60-80% de RC y el 30-50% de curaciones. Este avance se ha conseguido gracias a la introducción de las antraciclinas, al diseño de nuevos esquemas de quimioterapia y a la mejora progresiva del tratamiento de soporte (hemoterapia, antibióticos, factores de crecimiento) que ha permitido aplicar terapias agresivas.

Basándose en las experiencias de la poliquimioterapia en la enfermedad de Hodgkin, McKelvey diseñó en 1976 la combinación CHOP, que ha sido el estándar de tratamiento para los LNH agresivos[74] (tabla 27.13). El CHOP se administra de forma intermitente cada 3 semanas, en un total de 6 a 8 ciclos, y consigue el 50% de remisiones completas, con el 35% de supervivientes a largo plazo.

Durante la década de 1970 y la de 1980, se desarrollaron diversos esquemas de quimioterapia denominados de segunda (M-BACOD, m-BACOD, ProMACE/MOPP) y tercera generación (ProMACE/CytaBOM, MACOP-B, LNH-84, etc.) en un intento de lograr mejores resultados que con los esquemas de primera generación (CHOP). Dichos esquemas se basaban en el incremento del número de fármacos administrados, la combinación secuencial de fármacos mielodepresores con otros no mielodepresores, y una mayor intensidad de dosis. La aparente superioridad inicial de dichos esquemas no se confirmó con un seguimiento prolongado. Así, el ensayo multicéntrico del SWOG[75] que comparó el CHOP con esquemas de segunda y tercera generación (m-BACOD, ProMACE-CytaBOM y MACOP-B) demostró que no se observaron diferencias significativas en la tasa de RC, supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global entre CHOP y el resto de esquemas, y estos últimos presentaron, además, una mayor morbilidad y mortalidad respecto al CHOP (el 1% de mortalidad con CHOP, el 6% con MACOP-B, el 5% con M-BACOD y el 3% con ProMACE-CytaBOM). Por tanto, y por defecto, CHOP fue considerado el estándar de tratamiento (tabla 27.17).

En la última década se han realizado, fundamentalmente, cuatro estrategias con la intención de mejorar la supervivencia: *a*) aumentar la intensidad de las dosis (esquemas tipo mega-CHOP o ACVBP); *b*) aumentar la intensidad y densidad de las dosis (esquemas tipo CHOP o CHOEP cada 14 días); *c*) combinación de quimioterapia con anticuerpos monoclonales anti-CD20, y *d*) autotrasplante de progenitores hematopoyéticos. Actualmente, hay gran controversia en cuanto a la mejor estrategia de tratamiento para los LNH agresivos, y esto presenta una mayor complejidad si, además, se analizan aspectos de coste y calidad de vida. Por tanto, preferimos exponer los resultados de los estudios más importantes, y el tiempo permitirá extraer conclusiones definitivas que, actualmente, sería poco prudente realizar.

Así, los esquemas tipo mega-CHOP, pese a obtener tasas de respuestas completas elevadas, éstas no se han traducido en un aumento de la supervivencia[76,77]. Recientemente, el grupo alemán ha observado que en pacientes jóvenes de bajo riesgo la quimioterapia tipo CHOEP administrada cada 14-21 días, más radioterapia en áreas *bulky*, es mejor que

TABLA 27.17

Eficacia de poliquimioterapia en linfoma agresivos

Régimen	N	RC (%)	SLE 3 años (%)	SG 3 años (%)	Muertes tóxicas (%)
CHOP	225	44	41	54	1
MBACOD	223	48	41	52	5
ProMACE-CytaBOM	233	56	46	50	3
MACOP-B	218	51	46	50	6

RC: remisión completa; SLE: supervivencia libre de enfermedad; SG: supervivencia global. Tomada de la referencia 75.

CHOP más radioterapia[78]. Un estudio internacional (estudio MInT) ha analizado el papel de la adición de rituximab a quimioterapia con antraciclinas (CHOP o similares) en pacientes jóvenes sin FP adversos[79]. Este estudio ha sido cerrado precozmente, ya que un análisis preliminar ha demostrado una mayor tasa de remisiones, menor índice de progresión, mayor intervalo para el fallo del tratamiento y una mejor supervivencia global sin aumento significativo de la toxicidad, a favor de quimioterapia más rituximab.

Sin embargo, la perspectiva para los pacientes con LNH agresivo con factores pronósticos adversos no es tan favorable. En este grupo de pacientes se ha explorado el papel del trasplante autólogo (tabla 27.18), bien después de una quimioterapia intensiva breve o tras la administración de un tratamiento completo (p. ej., CHOP × 6-8 ciclos)[80,81]. Varias revisiones y un reciente metaanálisis resaltan que el trasplante autólogo en primera línea no puede ser considerado un procedimiento estándar en el LNH agresivo, aunque algunos pacientes con FR podrían beneficiarse de esta estrategia, especialmente cuando se realiza en situación de remisión completa tras un tratamiento completo de quimioterapia. Además, hay que considerar la toxicidad a largo plazo de este procedimiento, con una incidencia de síndrome mielodisplásico del 7,4% a los 10 años[82-84]. En conclusión, no existe un consenso definitivo sobre cuál es la mejor estrategia de tratamiento de los pacientes con linfoma agresivo y FP adversos, y la actitud más recomendable es incluir a los pacientes en ensayos clínicos prospectivos.

TABLA 27.18

Indicaciones de trasplante de progenitores hematopoyéticos en linfomas no hodgkinianos agresivos

Primera o subsiguiente recaída quimiosensible*	SÍ
Primera o subsiguiente recaída quimiorresistente	NO
Enfermedad primaria refractaria	NO
En caso de respuesta lenta al tratamiento de inducción	?
En pacientes de riesgo intermedio/alto y alto (Índice Pronóstico Internacional ajustado a la edad)	
Después de tratamiento de inducción abreviado	NO
Después de tratamiento de inducción estándar	SÍ

*Incluye pacientes con afección medular y ECOG alto.

Un aspecto clínico que debe comentarse es el *tratamiento de los pacientes de edad avanzada*. Las características clínicas son parecidas, aunque la tasa de RC (45-60%) y la supervivencia libre de enfermedad y global es menor en el grupo de pacientes mayores de 60 años. Las diferencias pueden estar relacionadas con una menor intensidad de la dosis administrada, así como con la presencia asociada de comorbilidades. Los enfermos de 60 a 69 años presentan un 71% de RC, con una supervivencia global a los 10 años del 35%, frente a los de más de 70 años, que tienen un 54% de RC y un 10% de supervivencia a los 10 años. El IPI también identifica grupos de pacientes con una evolución diferente. Se han realizado esquemas específicos adaptados a la edad (CNOP, VNCOP-B, etc.) (tabla 27.13), pero varios estudios aleatorizados no han demostrado beneficio sobre el CHOP[85,86]. Sin embargo, recientemente se han comunicado dos estrategias que mejoran la supervivencia respecto al CHOP. En primer lugar, el GELA ha observado que la adición de rituximab al CHOP consigue, de manera significativa, una prolongación de la supervivencia libre de enfermedad, así como de la supervivencia global (73 frente al 61% a los 18 meses). Este beneficio se produce independientemente del IPI y, especialmente, en aquellos pacientes que tienen expresión aumentada de la proteína bcl-2. Por tanto, este grupo propugna que el estándar de tratamiento en el LNH agresivo del anciano es de 8 ciclos de R-CHOP[87]. En contraposición, el grupo alemán ha demostrado que intensificar el tiempo de administración del CHOP y administrarlo cada 14 días (en lugar de cada 21 días) por un total de 6 ciclos junto con la administración de radioterapia sobre áreas *bulky*, consigue una mayor tasa de RC (76 frente al 60%), una mejor supervivencia libre de progresión (44 frente al 33%) y una mejor supervivencia global a los 5 años (53 frente al 41%)[88].

Una cuestión que también se debe considerar en el tratamiento de los linfomas agresivos es si debe efectuarse *profilaxis del SNC*. Un 1-2% de pacientes con linfoma de células grandes presenta afección del SNC al diagnóstico, y un 5% tienen probabilidad de recaída en el mismo después del diagnóstico[89]. La recaída en SNC es una complicación fatal en la mayoría de pacientes, con una supervivencia media de 3 meses tras la comprobación de la recaída. Sin embargo, la incidencia no es lo suficientemente alta como para considerar la profilaxis del SNC en todos los pacientes, y no hay que olvidar que también origina inconvenientes y toxicidades. Por tanto, la identificación de grupos de pacientes que pueden beneficiarse de profilaxis es importante. Varios factores se han asociado con un riesgo aumentado: enfermedad avanzada, afectación extramedular (sangre periférica, médula ósea, gastrointestinal, senos paranasales, testículos), LDH elevada, etc. Un reciente estudio ha demostrado que los pacientes con afección extraganglionar en dos o más localizaciones y con aumento de la LDH tienen una probabilidad de recaída en el SNC a un año del 17%, frente al 2,8% del resto[90]. Así, en los pacientes con estos factores de riesgo está justificado el tratamiento profiláctico. También se cree indicada en los linfomas testiculares y de senos paranasales, así como cuando hay afectación de la médula ósea por células grandes. En estos pacientes, debería contemplarse el estudio del LCR al inicio y una profilaxis durante el tratamiento con quimioterapia intratecal (p. ej., metotrexato 12 mg o combinaciones con metotrexato 12 mg + citarabina 30 mg + hidrocortisona 20 mg) o quimioterapia sistémica que atraviese la barrera hematoencefálica. La radioterapia no parece aportar beneficio a la quimioterapia intratecal y sistémica.

El tratamiento y pronóstico de los *linfomas asociados a la infección por VIH* ha cambiado radicalmente en la última década. En general, antes de la era del tratamiento antirretroviral de gran eficacia (TARGA), la mediana de supervivencia era inferior a un año, y el paciente fallecía por el linfoma o por infecciones oportunistas[91]. Los resultados de los estudios actuales que combinan quimioterapia con antraciclinas y TARGA son muy esperanzadores[92]. Un reciente estudio que comparó CHOP frente a CHOP más TARGA demostró mayor tasa de RC (34 frente al 75%) y mejor supervivencia mediana (7 meses frente a no alcanzada) a favor del tratamiento combinado. El papel de la adición de rituximab está actualmente en controversia. La profilaxis del SNC es obligada cuando se

pretende la erradicación del linfoma. Incluso se está estudiando el papel del autotrasplante en las recaídas quimiosensibles. Los pacientes con linfomas muy agresivos, como el linfoma de Burkitt, requieren regímenes más intensivos que el CHOP. El linfoma cerebral primario en el contexto de la infección por VIH tiene un pronóstico infausto (mediana de supervivencia de 2-3 meses). Se debe decidir si el paciente está en condiciones de realizar tratamiento agresivo con regímenes diseñados especialmente para el linfoma de SNC, y o bien radioterapia con finalidad exclusivamente paliativa.

Tratamiento del linfoma del manto

El linfoma del manto, aunque por su histología y características clínicas iniciales se incluye en el grupo de linfomas indolentes, es probablemente el LNH de células B más refractario al tratamiento. Sus principales características clínicas se detallan en la tabla 27.19. Los esquemas quimioterápicos con o sin antraciclinas (COP, CHOP) consiguen menos del 50% de RC, e independientemente del tratamiento utilizado, la mediana de supervivencia es de unos 3 años. La fludarabina en monoterapia tiene limitada eficacia, y no se obtiene beneficio con la adición de antraciclinas. El régimen de primera línea Hyper-CVAD y dosis elevadas de metotrexato y citarabina (tabla 27.13) seguido de trasplante autólogo o alogénico ha conseguido resultados muy prometedores, en una serie con una supervivencia libre de enfermedad del 43% y supervivencia global del 72% a los 3 años[93].

TABLA 27.19

Características clínicas del linfoma de la célula del manto

6-8% del total de LNH
Incidencia en la 5.ª-6.ª décadas (predominio masculino)
Presentación clínica: linfadenopatías, esplenomegalia, infiltración medular, leucemización frecuente, afección extraganglionar (tubo digestivo: poliposis linfomatoide, anillo de Waldeyer)
Estadio avanzado en el 80-90% de pacientes
Respuesta inicial a la quimioterapia, pero recaídas frecuentes y rápidas, refractarias al tratamiento
Mediana de progresión después del tratamiento: 18-24 meses
Mediana de supervivencia global: 3-4 años

La monoterapia con rituximab tiene una eficacia moderada en el linfoma del manto (respuestas del 37% y duración media de la respuesta de 7-14 meses). Varios estudios en fase II que han asociado el rituximab con quimioterapia (CHOP, Hyper-CVAD, EPOCH, FCM) han obtenido unos resultados muy esperanzadores, con unas respuestas del 90 al 95% y RC del 48%[94]. Todavía no se tienen datos consistentes de supervivencia a medio plazo.

Aunque el papel del autotrasplante sigue en controversia, y muchos pacientes sufren una recaída tras el trasplante[95], un reciente análisis retrospectivo del EMBT mostró que los pacientes autotrasplantados en primera RC obtienen un beneficio en cuanto a supervivencia[96]. El trasplante alogénico en primera línea debe realizarse en el contexto de ensayos clínicos.

Tratamiento de los linfomas T

Las neoplasias linfoides de célula T son un grupo heterogéneo de entidades malignas poco frecuentes en los países occidentales[2,97]. Dentro de los linfomas T periféricos, la clasificación REAL/OMS reconoce varios subtipos con entidad histológica y clínica distintiva como el linfoma anaplásico de célula grande, linfoma angioinmunoblástico, linfoma intestinal, etc. El resto, es decir aquellos de los que en la actualidad no se dispone de suficientes criterios distintivos, son agrupados en la categoría denominada linfomas T periféricos no especificados. En general, presentan un comportamiento clínicamente agresivo, incluso los que eran considerados morfológicamente de bajo grado, y actualmente se está de acuerdo en que estos linfomas tienen una peor respuesta al tratamiento y una menor supervivencia que los linfomas con origen en células B, incluso cuando se estratifican por el IPI[98]. El abordaje terapéutico de estos linfomas no está bien definido en la actualidad, y se ha basado en la experiencia de los linfomas B. Se han utilizado diferentes regímenes de quimioterapia con o sin adriamicina, y los resultados son poco satisfactorios. A excepción de los linfomas anaplásicos T positivos para ALK, que tienen una alta tasa de remisiones (> 90%) y de curaciones (supervivencia 70-80% a 10 años)[99], el resto de pacientes deberían incluirse en ensayos clínicos, ya que cuando se presentan en estadios avanzados su supervivencia a largo plazo es inferior al 20%. El papel del autotrasplante en primera línea tampoco está bien definido[80].

Se han descrito múltiples variables con impacto en el pronóstico. Así, el IPI, diseñado inicialmente para linfomas agresivos de célula B, ha demostrado en varias series su utilidad para identificar grupos con diferente riesgo, y recientemente se ha diseñado un índice pronóstico específico para los linfomas T, como se ha referido anteriormente (tabla 27.7).

Algunos de los linfomas T periféricos tienen una presentación característicamente extraganglionar, por lo que se han tratado específicamente en el Capítulo 26.

Linfomas muy agresivos

Linfoma linfoblástico

El linfoma linfoblástico (LL) constituye el 2-4% de los LNH en el adulto y el 40% de los linfomas en la infancia. Al igual que el linfoma de Burkitt, su agresividad clínica exige un tratamiento especialmente intensivo. Las dos terceras partes de pacientes presentan al inicio masa mediastínica que, por su rápido crecimiento, puede ocasionar un síndrome de vena cava superior. El derrame pleural y pericárdico (con riesgo de taponamiento cardíaco) y las poliadenopatías cervicales, supraclaviculares y axilares, también son manifestaciones comunes en el inicio de la enfermedad. La médula ósea se halla afectada al diagnóstico en el 30-40% de casos, y si el linfoma progresa, la leucemización es muy frecuente, hecho que puede hacerlo indistinguible de una leucemia linfoblástica. Arbitrariamente, se separa el LL de la leucemia aguda linfoblástica, según que el porcentaje de linfoblastos en la médula ósea sea inferior o superior al 25%, respectivamente. La afección del SNC es especialmente frecuente en los pacientes con infiltración medular.

Con quimioterapia tipo CHOP más metotrexato y quimioterapia intratecal se obtienen unas RC del 40-70%, pero la supervivencia libre de enfermedad a 3 años es sólo del 20 a

30%[100]. Regímenes más intensivos, a semejanza de los utilizados en niños, han mejorado la supervivencia. De esta forma, el protocolo LSA2-L2 consigue unas RC del 70-80% con una supervivencia del 40% a los 5 años (comparada con el 75-80% de larga supervivencia en niños). El régimen Hyper-CVAD también ha mostrado unos resultados similares (RC del 90% con una supervivencia del 70% a los 3 años). Recientemente[101], con un protocolo tipo leucemia aguda del grupo alemán BFM (inducción intensiva junto a quimioterapia intratecal y radioterapia craneal y mediastínica, seguido de consolidación agresiva y reinducción) se han obtenido unas RC del 100% en la enfermedad localizada, y del 89% en la diseminada, con una supervivencia libre de progresión del 62% a los 7 años (resultados también inferiores a los logrados en los niños).

La radioterapia mediastínica ha mostrado beneficio en algún estudio tanto pediátrico como en adultos, pero su uso sigue en controversia. De igual forma, no se ha definido el papel del autotrasplante en primera línea. En el único estudio aleatorizado, el uso del trasplante autólogo en primera remisión completa produjo una tendencia a mejor supervivencia libre de recaída, pero no mejoría en la supervivencia global[102].

La afección de médula ósea, SNC y aumento de la LDH en el momento del diagnóstico se consideran factores de mal pronóstico, y delimitan dos grupos de diferente riesgo. Los pacientes con dichos FP adversos presentan una supervivencia libre de recaída a los 5 años del 19%, frente al 94% para los que no los presentan. En el grupo de alto riesgo parece lógico explorar nuevas estrategias dentro de estudios clínicos.

Linfoma de Burkitt

El linfoma de Burkitt (LB) representa el 1-2% de todos los LNH y el 30-40% de los linfomas infantiles. También aparece con mayor frecuencia en pacientes con inmunodeficiencia, particularmente en sujetos VIH positivos. Las *formas endémicas* (africanas) se relacionan con el virus de Epstein-Barr (VEB) en el 95% de casos, predominan en la infancia en forma de tumores mandibulares y abdominales, y frecuente infiltración del SNC, pero escasa afección medular. Las *formas esporádicas* son las observadas en Europa y Estados Unidos, debutando la enfermedad con masa abdominal (80 a 90%) que afecta el íleon distal, ciego y mesenterio, pero también con posibilidad de afección de pleura, ovarios, mama y testículos. El 15-20% de casos se halla asociado con el VEB. La infiltración medular es frecuente al inicio (20%), y aumenta la posibilidad de infiltración del SNC.

El sistema de estadificación más utilizado es el de St. Jude, que se detalla en la tabla 27.20. Las principales complicaciones derivadas directamente del crecimiento y de la carga tumoral son la obstrucción o perforación intestinal, la nefropatía por hiperuricemia y la aparición de alteraciones bioquímicas ocasionadas por la rápida proliferación del tumor.

La literatura en relación al tratamiento del linfoma de Burkitt en adultos es escasa y de difícil interpretación, debido a cambios en las clasificaciones, la dificultad diagnóstica en ocasiones entre el linfoma de Burkitt, tipo-Burkitt y los linfomas difusos de células grandes y a la mezcla de características clínicas. Se utilizan dosis incrementadas de citostáticos (que incluyen ciclofosfamida, metotrexato, citarabina, etc.) o en intervalos acortados entre ciclos, con la intención de sobrepasar la resistencia a drogas y maximizar la eficacia de la quimioterapia. La profilaxis del SNC con tratamiento intratecal es obligada. Todos los regímenes publicados son similares, aunque con diferencias de dosificación y esquema[103,104]. En general, requieren hospitalización y medidas activas de prevención del síndrome de lisis tumoral, causa frecuente de muerte por hiperpotasemia, y cuyas características, prevención y tratamiento se detallan en la tabla 27.21. También provocan una toxicidad importante, principalmente hematológica por mielosupresión y extrahematológica por mucositis. Las tasas de RC oscilan entre 75-100%, y la supervivencia global es del 50-70% a largo plazo. Sin embargo, si existe infiltración de la médula ósea o del SNC al diagnóstico, la supervivencia baja al 0-30% a largo plazo. Otros factores adversos descritos son: LDH elevada, mal estado general y masa voluminosa.

En general, todos los pacientes que no alcanzan la RC con estos regímenes intensivos mueren por el linfoma, y las recaídas suelen presentarse en los primeros 18 meses. Actualmente, existe consenso respecto a la ausencia de beneficio del trasplante en situación de primera remisión completa, aunque algunos grupos lo realizan en pacientes con factores de riesgo.

TABLA 27.20

Sistema de estadificación de St. Jude de los linfomas no hodgkinianos infantiles

Estadio I
- Tumor único (extraganglionar)
- Área anatómica única (ganglionar) excluyendo mediastino o abdomen

Estadio II
- Tumor único (extraganglionar) con afección ganglionar regional
- Tumor primario gastrointestinal con o sin afección de ganglios mesentéricos, extirpado macroscópicamente
- En el mismo lado del diafragma:
  - *a*) Más de dos áreas ganglionares
  - *b*) Dos tumores únicos extraganglionares con o sin afección regional ganglionar

Estadio III
- A ambos lados del diafragma:
  - *a*) Dos tumores únicos extraganglionares
  - *b*) Más de dos áreas ganglionares:
    - Todos los tumores intratorácicos primarios (mediastínico, pleural, tímico)
    - Toda enfermedad primaria intraabdominal extensa
    - Todos los tumores primarios paraespinales o epidurales, independientemente de otras localizaciones

Estadio IV
- Cualquiera de los anteriores, con afección inicial del SNC o medular (< 25%)*

*Los pacientes con > 25% de blastos en médula ósea se consideran leucemia aguda.

TABLA 27.21

Síndrome de lisis tumoral

Datos analíticos
Hiperpotasemia, hiperuricemia, hiperfosfatemia, hipocalcemia (alteraciones más evidentes entre las 24 y 96 h postratamiento), uremia

Factores pretratamiento de alto riesgo
Insuficiencia renal
LDH elevada

Tratamiento
Conseguir una diuresis horaria de 150-250 mL/m^2
Hidratación vigorosa y diuréticos para mantener una diuresis horaria de 150-250 mL/m^2 durante la quimioterapia y hasta 3 días después de finalizada
No se recomienda la alcalinización de la orina durante la quimioterapia (mantener pH 7), pues incrementa el riesgo de precipitación intratubular de fosfato
Alopurinol, 100 mg/m^2/8 h (10 mg/kg/día; máximo 800 mg/día) v.o. o 200-400 mg/m^2/día i.v. en 1-3 dosis (máximo 600 mg/día). Reducir al 50% si hay insuficiencia renal moderada-grave
Rasburicasa 0,20 mg/kg/día i.v., durante 5 a 7 días (no se debe administrar con alopurinol). También es eficaz dosis y duración menor (0,05-0,20 mg/kg durante 1-3 días i.v.)

Tratamiento de las recaídas

Linfomas indolentes

Como se ha expuesto previamente, los linfomas foliculares se caracterizan por un curso clínico con múltiples recaídas y remisiones, éstas cada vez de menor duración. Siempre que se produzca una recaída debería practicarse una nueva biopsia para descartar la posibilidad de una transformación histológica a un linfoma de células grandes. El riesgo de transformación a una histología agresiva es del 10% a los 5 años y del 40% a los 10 años, y es similar en los pacientes tratados como en los no tratados. La transformación histológica es, probablemente, el factor pronóstico más importante en este contexto, y determina una evolución especialmente desfavorable pese a la utilización de tratamientos agresivos, aunque es bien conocido que algunos pacientes pueden alcanzar supervivencias prolongadas en esta situación. Los pacientes con transformación histológica deben recibir quimioterapia agresiva como la utilizada en los linfomas agresivos, aunque su pronóstico es sustancialmente peor al de éstos. En esta situación, el trasplante autólogo consigue supervivencias globales del 45-70% a los 5 años[105,106]. Por tanto, el trasplante autólogo es una opción razonable para pacientes seleccionados con LF transformado (pacientes jóvenes, buen estado general, enfermedad quimiosensible).

El grupo inglés de St. Barth ha estudiado el patrón de supervivencia de los pacientes con linfoma folicular después de las recaídas, con los siguientes resultados[107]. Posteriormente a la recaída, la mediana de supervivencia fue de 4,5 años, y la respuesta global al primer retratamiento fue del 78%, disminuyendo a medida que se producían recaídas sucesivas, presentando, no obstante, un 48% de respuestas después de la cuarta línea de tratamiento. La duración mediana de la primera remisión fue de 31 meses, y de 13 meses para la segunda. Un punto que cabe destacar fue que la supervivencia después de la segunda remisión se correlacionó con la edad y la calidad de la respuesta, un 53% de pacientes con segunda RC estaban vivos 10 años más tarde, frente al 28% con remisión parcial.

Si la histología en la recaída continúa siendo indolente, las opciones son varias y deben adaptarse a la circunstancia clínica individual, a la edad del paciente y a la presencia de factores pronósticos. También es útil conocer el pronóstico en el momento de la recaída o progresión, aunque son escasos los estudios de análisis de factores pronósticos evolutivos en los LF. Las variables predictivas son básicamente las mismas que en el momento del diagnóstico: edad, estadio de Ann Arbor, masa tumoral y cifra sérica de LDH y β_2-microglobulina. Además, la duración de la primera respuesta tiene un valor pronóstico elevado. Así, los LF que obtienen una primera respuesta completa o parcial de más de un año de duración tienen una supervivencia mediana de casi 6 años, mientras que ésta es sólo de 2,4 años para aquellos cuya duración de respuesta fue inferior a un año.

Las combinaciones históricas de poliquimioterapia (DHAP, ESHAP y MINE-ESHAP) (tabla 27.22) consiguen hasta el 50-69% de respuestas globales, con un 35-48% de RC y una mediana de supervivencia de 24 meses después de una mediana de seguimiento de 50 meses[108,109].

La fludarabina en monoterapia ha mostrado el 50-60% de respuestas (10-15% RC) con una duración de unos 12 a 16 meses. Su asociación con otros citostáticos aumenta las tasas de respuesta al 50-90% (alrededor del 50% de RC), y la supervivencia mediana libre de progresión y global son de 14 y 34 meses, respectivamente[110].

El tratamiento con rituximab produce respuestas del 60% en pacientes con LF, con un tiempo mediano para la progresión de 13 meses[111], y es eficaz en pacientes con enfermedad voluminosa e incluso previamente tratados con rituximab. El tratamiento extendido (8 dosis de rituximab en lugar de 4) aumenta la tasa de respuesta. Su asociación con poliquimioterapia (R-CHOP, R-FM, R-FC, R-FCM, etc.) consigue mayores tasas de respuestas (45-95%) así como de RC (11 a 75%), e incluso una elevada proporción de remisiones moleculares.

El TPH en los linfomas foliculares en recaída es un tema en controversia, pues todavía se cuestiona si mejora sustancialmente el pronóstico (mejoría de la supervivencia global), al no disponerse de seguimientos muy prolongados y al haberse observado recaídas sin aparición de meseta en las curvas de supervivencia libre de recaída de los pacientes trasplantados. No obstante, es probable que algún paciente individual pueda curarse con el TPH (especialmente aquellos con negatividad de bcl-2/IgH por PCR).

Un reciente estudio aleatorizado en fase III (estudio CUP) ha comparado el autotrasplante frente a la quimioterapia (3 ciclos de CHOP seguido de trasplante frente a 6 ciclos de CHOP)[112]. Con un seguimiento de 69 meses, la supervivencia libre de progresión a 2 años fue significativamente mejor en la opción del trasplante (55 frente al 26%). La supervivencia global a 4 años también fue mejor con el trasplante (71 frente al 46%). Existe controversia sobre si el purgado tiene impacto pronóstico, tanto si se realiza *in vitro, in vivo* o en el mantenimiento. Así pues, el trasplante autólogo es una

TABLA 27.22

Protocolos de rescate en los linfomas no hodgkinianos

	Dosis	Administración	Día
Dexametasona	40 mg	i.v./v.o.	1.º al 4.º
H			
A citarabina	2 g/m²/12 h	i.v. en infusión de 3 h cada dosis	2.º
P cisplatino	100 mg/m²	i.v. en infusión continua de 24 h	1.º
Cada 21-28 días			
Mesna	1,33 g/m²	i.v.	1.º al 3.º
Ifosfamida	1,33 g/m²	i.v. en 1 h	1.º al 3.º
N mitoxantrona	8 mg/m²	i.v.	1.º
Etopósido	65 mg/m²	i.v. en 1 h	1.º al 3.º
Cada 21 días			
Etopósido*	40-60 mg/m²	i.v. en 1 h	1.º al 4.º
S metilprednisolona	250-500 mg	i.v.	1.º al 5.º
H			
A citarabina (altas dosis)*	2 g/m²	i.v. en 2 h	5.º
P cisplatino	25 mg/m²	i.v. en infusión continua de 24 h	1.º al 4.º
Cada 21-28 días			
Ifosfamida	5 g/m² i.v. en 2 h		1.º
A citarabina	1,2 g/m²/12 h i.v. en 2 h		1.º al 2.º
P metilprednisolona	80 mg/m² i.v.		1.º al 5.º
VP_{16}	100 mg/m² i.v. en 1 h		1.º al 3.º
Cada 28 días			
Ifosfamida	5 g/m² i.v. en infusión continua de 24 h		2.º
(+ Mesna)			
Carboplatino	Área bajo la curva 5 (máx: 800 mg) i.v.		2.º
Etopósido	100 mg/m² i.v. en 1 h		1.º al 3.º
Cada 14 días			
Ifosfamida	10 g/m² i.v. en infusión continua de 72 h		1.º
(+ Mesna)			
VP_{16}	150 g/m²/12 h i.v. en 2 h		1.º al 3.º
Metilprednisolona	60 mg/m² i.v.		1.º al 5.º
Taxol-topotecán			
Taxol	200 mg/m² i.v. en 3 h		1.º
Topotecán	1 mg/m² i.v. en 30 min		1.º al 5.º

*En pacientes de > 65 años o con radioterapia pélvica previa: reducción de dosis de VP_{16} y citarabina.

opción en aquellos pacientes con buen estado general y con enfermedad quimiosensible, aunque debe recordarse que existe un riesgo incrementado de aparición de síndrome mielodisplásico/leucemia aguda vinculado al TPH.

El trasplante alogénico es un procedimiento potencialmente curativo como se ha comentado anteriormente[113]. Es una estrategia que se puede aplicar tanto en enfermedad quimiosensible como en quimiorrefractaria, aunque lógicamente con diferentes expectativas. Tiene la ventaja de la ausencia de contaminación del producto infundido y del posible efecto del injerto frente al linfoma. Aunque la tasa de recaídas es menor que con autotrasplante (21 frente a 43-58% a los 5 años), la mortalidad relacionada con el procedimiento es mucho mayor (30 frente a 8-14% a los 5 años), y por ello no se observan diferencias en términos de supervivencia global. El trasplante alogénico con regímenes de intensidad reducida, que disminuyen la mortalidad relacionada con el procedimiento, son la estrategia actual en este contexto[114].

Recientemente, se ha estudiado una nueva estrategia mediante la utilización de anticuerpos monoclonales unidos a radionúclidos en LF recaído. Existen dos conjugados con radionúclidos unidos a anti-CD20 (Bexxar con yodo-131 y Zevalin con itrio-90). Las partículas radiactivas liberadas son citotóxicas sobre varios diámetros celulares, y permiten la penetración de las radiaciones en ganglios voluminosos e incluso eliminan células malignas que sean mutantes antigénicas negativas. Sin embargo, presentan aspectos técnicos y de seguridad muy diferentes (el yodo-131 emite radiación gamma, a diferencia del itrio-90). Tras los buenos resultados en estudios de fase II, se han finalizado dos estudios en

fase III que han mostrado una mayor tasa de respuestas globales, completas, y duración de la respuesta cuando se compararon con el mismo anticuerpo monoclonal no conjugado[115]. Su papel específico en el LF recaído o refractario se tendrá que definir en los próximos años.

Linfomas agresivos

El 15-50% de pacientes con linfoma agresivo sufren una recaída después de haber conseguido una RC. El período de tiempo transcurrido hasta la recaída y el IPI en el momento de la misma pueden ser útiles para la predicción de la supervivencia. Así, si la recaída se produce posteriormente a los 12 meses de consecución de la RC y el IPI es de 0/1, un 53% y un 37% de los pacientes están vivos a los 3 y 10 años, respectivamente, frente a ningún paciente vivo a los 6-7 años si el IPI en la recaída es ≥ 3 o el IPI es 2 y la recaída se ha producido antes de los 12 meses.

Los tratamientos de rescate de los pacientes con linfoma agresivo en recaída se muestran en la tabla 27.22. La supervivencia a largo plazo con estos regímenes es inferior al 10 a 15%[116]. Actualmente, la adición de rituximab a estos regímenes aumenta la tasa de respuestas, sin aumentar la toxicidad, pero se desconoce el impacto en la supervivencia.

El procedimiento potencialmente curativo en la recaída de un linfoma agresivo es el TPH. Sin embargo, los pacientes con linfoma agresivo refractario o quimiorresistente tienen menos del 10% de supervivencia libre de enfermedad, debido a la mayor mortalidad del procedimiento (20-30%) y a que la mayoría mueren por progresión del linfoma. En comparación, aquellos pacientes con recaída quimiosensible, o que tienen enfermedad quimiosensible aunque nunca hayan alcanzado la RC, tienen una supervivencia libre de enfermedad del 30-50% a los 3-5 años[117]. Así, el estudio multicéntrico PARMA[118] demostró que un curso breve de quimioterapia seguida de autotrasplante (dos ciclos de DHAP y trasplante antólogo acondicionado con BEAC) era superior a un curso más prolongado de la misma quimioterapia (6 ciclos de DHAP). El intervalo de tiempo hasta la recaída y el IPI se identificaron como factores pronósticos para la supervivencia libre de enfermedad y global[119,120].

Cuando un paciente recae tras un autotrasplante, el pronóstico es infausto, y son pocas las opciones terapéuticas potencialmente curativas. La realización de un trasplante alogénico puede proporcionar el control de la enfermedad durante un tiempo, pero las posibilidades de supervivencia a los 5 años son del 5%[121].

Las mismas actitudes referidas en los párrafos previos son aplicables para las recaídas de los linfomas T agresivos. Hay que reseñar que el trasplante autólogo presenta el mismo beneficio que en los linfomas B[122]. Recientemente, se ha valorado la utilidad de Campath-1H (anticuerpo monoclonal frente a CD52), y se ha evidenciado cierta eficacia, pero con una toxicidad bastante significativa[123].

Nuevos tratamientos

Aunque muchos pacientes con LNH son potencialmente curables con los tratamientos disponibles actualmente, una gran proporción fallecerá por progresión del linfoma. En las últimas décadas, se han desarrollado nuevas terapias para el tratamiento de los linfomas. Además, los avances en biotecnología han facilitado el desarrollo de nuevos tratamientos diseñados para actuar tanto a nivel celular como genético. Ejemplos de estos últimos son los oligonucleótidos antisentido, las vacunas, los inhibidores del proteasoma, los inhibidores de la deacetilasa de histonas y análogos de la rapamicina.

Los *oligonucleótidos antisentido* (ONAS) son moléculas de DNA de cadena sencilla que tienen una secuencia que es complementaria al RNA mensajero diana, y que tras la introducción en el núcleo celular son capaces de inhibir la expresión del gen diana. En un reciente estudio en fase I, los ONAS frente a bcl-2 han demostrado actividad clínica en pacientes con LNH recaído, con una toxicidad aceptable.

El desarrollo de *vacunas tumorales antiidiotipo* ha sido facilitado por la identificación de antígenos específicos de tumor. Por el momento, se han realizado estudios principalmente en linfoma folicular con vacunas solubles. Se ha observado una prolongación de la supervivencia libre de progresión y global en aquellos pacientes en remisión que obtuvieron una respuesta inmunológica a la vacuna.

Los *inhibidores del proteasoma* (*bortezomib*) actúan a nivel de la vía ubiquitín-proteasoma, que es un sistema complejo que degrada proteínas reguladoras relacionadas en el control del ciclo celular, apoptosis, crecimiento celular, etc. Algunos estudios en fase I y II han demostrando actividad en varios tipos de LNH, principalmente en el linfoma del manto.

BIBLIOGRAFÍA

1. Magrath IT. The non-Hodgkin's lymphomas. Londres: Arnold, 1997. Toronto.
2. Salar A, Fernández de Sevilla A, Romagosa V et al. Distribution and incidence rates of lymphoid neoplasms according to the REAL classification in a single institution. A prospective study of 940 cases. Eur J Haematol 1997; 59:231-237.
3. Moormeier JA, Williams SF, Golomb HM. The staging of non-Hodgkin's lymphomas. Semin Oncol 1990; 17:43-50.
4. Harris NL, Jaffe ES, Stein H et al. A Revised European-American Clasification of Lymphoid Neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. Blood 1994; 84:1361-1392.
5. Jaffe ES, Harris NL, Stein, Vardiman JW, ed. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. WHO Classification of Tumours. Lyon: IARC Press, 2001.
6. Rosenberg SA. Validity of the Ann Arbor staging classification for the non-Hodgkin's lymphomas. Cancer Treat Rep 1977; 61:1023-1027.
7. Lister TA, Crowder D, Sutcliffe SB et al. Report of a Committee convent to discuss the evaluation and staging of patients with Hodgkin's Disease: Cotswolds Meeting. J Clin Oncol 1989; 7:1630-1636.
8. Hehn ST, Grogan TM, Miller TP. Utility of fine-needle aspiration as a diagnostic technique in lymphoma. J Clin Oncol 2004; 22:3046-3052.
9. Campbell JL, Matthews JP, Seymour JF, Wolf MM, Juneja SK. Optimum trephine length in the assessment of bone marrow involvement in patients with diffuse large cell lymphoma. Ann Oncol 2003; 14:273-276.
10. Hanson CA, Kurtin PJ, Katzmann JA et al. Immunophenotype analysis of peripheral blood and bone marrow in the staging of B-cell malignant lymphoma. Blood 1999; 94:3889-3896.
11. Pappa VI, Hussain HK, Reznek RH et al. Role of image-guided core-needle biopsy in the management of patients with lymphoma. J Clin Oncol 1996; 14:2427-2430.
12. Moulopoulos LA, Dimopoulos A. Magnetic resonance imaging of the bone marrow in hematologic malignancies. Blood 1997; 90: 2127-2147.

CAPÍTULO 28

Linfoma de Hodgkin

A. Sureda

ÍNDICE

Introducción
Origen de las células de Hodgkin y de Reed-Sternberg
Epidemiología y etiología
Epidemiología descriptiva
Etiología
Patología del linfoma de Hodgkin
Linfoma de Hodgkin clásico
Histología e inmunofenotipo del linfoma de Hodgkin de predominio linfocítico nodular
Evaluación clínica y estadiaje del Linfoma de Hodgkin
Estadiaje
Factores pronósticos en el linfoma de Hodgkin
Factores pronósticos para estadios iniciales
Factores pronósticos para estadios avanzados
Tratamiento del linfoma de Hodgkin
Tratamiento del linfoma de Hodgkin (estadios I-II con pronóstico favorable)
Tratamiento del linfoma de Hodgkin (estadios I-II con pronóstico desfavorable)
Tratamiento del linfoma de Hodgkin en estadios avanzados (estadios III-IV)
Manejo del linfoma de Hodgkin en recaída o refractario
Efectos secundarios a largo plazo
Neoplasias secundarias
Complicaciones cardiovasculares
Bibliografía

INTRODUCCIÓN

El linfoma de Hodgkin (LH), que representa aproximadamente el 30% de todos los linfomas, está considerado en la actualidad una enfermedad neoplásica de estirpe linfoide B que ha despertado el interés de la comunidad científica desde hace muchos años por diversos motivos. En primer lugar, esta patología fue descrita inicialmente en 1832 por el tan excéntrico como brillante médico inglés Thomas Hodgkin. En segundo lugar, esta enfermedad presenta una serie de características clínicas que, durante mucho tiempo, sugirieron una etiología infecciosa. En tercer lugar, hay que destacar su sorprendente y exitosa evolución terapéutica. El LH era básicamente incurable hasta mediados del siglo XX. En la actualidad, el LH es una enfermedad altamente curable, con una tasa de supervivencia a los 5 años superior al 90% en casos con enfermedad localizada. Dentro del término de LH se incluyen dos entidades anatomopatológicas y clínicas diferentes: el LH de predominio linfocítico nodular (LHPLN), que representa aproximadamente el 5% de casos, y la más frecuente variedad clásica del LH, que constituye el 95% restante. Una característica común a ambas entidades es que las células neoplásicas constituyen una minoría de las células presentes en el tejido afectado y representan sólo el 2% de la masa tumoral total[1]. Este hecho ha dificultado durante muchos años su estudio.

ORIGEN DE LAS CÉLULAS DE HODGKIN Y DE REED-STERNBERG

El origen neoplásico o infeccioso del LH ha constituido un aspecto sujeto a intensos debates hasta hace relativamente poco tiempo. Los resultados iniciales de estudios destinados a clarificar la naturaleza del LH fueron decepcionantes fundamentalmente debido a la presentación anatómica peculiar de los ganglios linfáticos infiltrados por LH, en los que un número escaso de células mononucleadas y multinucleadas gigantes morfológicamente anómalas están rodeadas de un

infiltrado reactivo compuesto por células linfoides T, histiocitos, eosinófilos y células plasmáticas (fig. 28.1). Esta característica supone un obstáculo importante para obtener una población celular pura de la que se sospechaba era la población celular patognomónica del LH. Por todo ello, durante muchos años, las células de Hodgkin y de Reed-Sternberg no pudieron ser analizadas mediante técnicas de biología molecular como el *Southern Blot* o la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

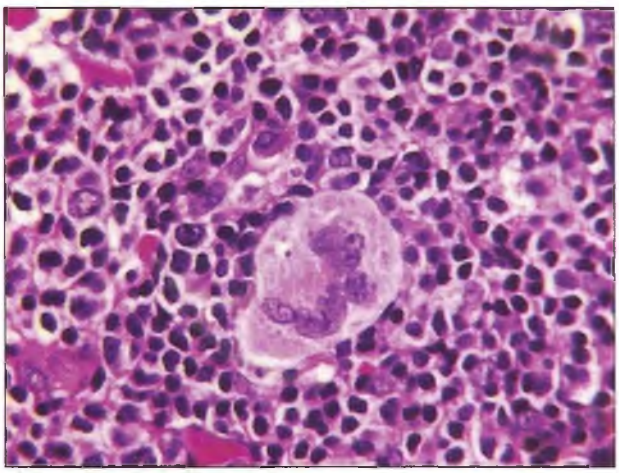


Figura 28.1. Célula de Reed-Sternberg diagnóstica. Se trata de células grandes con características morfológicas de poliploidía con núcleo multilobulado, múltiple o doble. La membrana nuclear es gruesa y existen nucléolos grandes eosinofílicos (cortesía de Íñigo Espinosa y Ramón Bordes, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona).

Las células de Hodgkin y de Reed-Sternberg expresan proteínas que son típicas de diferentes tipos celulares, pero los marcadores de línea B como el CD20, el receptor de las células B (BCR) o el CD79a se encuentran con poca frecuencia en estas células. De manera sorprendente, las células de estirpe linfoide e histiocítica difieren de las células de Hodgkin y de Reed-Sternberg de manera marcada en el hecho de que expresan de manera mayoritaria marcadores típicos de línea B como el CD20 y el BCR. Estos hallazgos, junto con la expresión recurrente del gen *BCL6* por parte de las células de estirpe linfoide e histiocítica, dato característico de las células B del centro germinal, acabó emplazando al LHPLN en este estadio específico de maduración de la línea celular B[2].

La progenie celular de las células de Hodgkin y de Reed-Sternberg fue establecida de manera definitiva cuando, a partir de muestras de biopsias de pacientes con LH micromanipuladas pudieron amplificarse los genes de las inmunoglobulinas reordenados[3]. Esta observación afirmó el carácter neoplásico del LH, demostrando la clonalidad de las células de Hodgkin y de Reed-Sternberg patognomónicas de esta patología. De manera adicional, la detección de mutaciones somáticas en los genes de las inmunoglobulinas reordenados implicaba a un progenitor de línea B del centro germinal o posterior al centro germinal como el progenitor de las células de Hodgkin y Reed-Sternberg, porque las mutaciones son introducidas en los genes de las inmunoglobulinas en este particular estadio del desarrollo de las células linfoides B[4].

Las células sanas del centro germinal que han conseguido una afinidad para el BCR presentan un patrón típico de mutación de las inmunoglobulinas. Se consideró que era poco probable que las células de Hodgkin y de Reed-Sternberg hubieran conseguido una mejora en la funcionalidad del BCR debido precisamente al patrón de mutación de las inmunoglobulinas. Puesto que la selección antigénica es una característica clave del centro germinal, el precursor de las células de Hodgkin y de Reed-Sternberg se definió como un progenitor B preapoptótico del centro germinal que había sido capaz de escapar de la selección negativa a partir de la adquisición de ventajas selectivas mediante mecanismos no bien establecidos.

Dos estudios han reportado casos raros de LH clásico con reordenamientos clonales del receptor de las células T, lo que indica el desarrollo ocasional de esta patología como un linfoma T[5,6].

Contrariamente al retrato molecular del LH clásico, el análisis del LHPLN muestra reordenamientos clonales de los genes de las inmunoglobulinas con mutaciones activas, lo que indica que el precursor putativo de las células linfoides e histiocíticas es un clon celular B mutante del centro germinal con signos de selección antigénica[3,7,8]. Estos hallazgos quedan corroborados con los obtenidos mediante estudios inmunohistoquímicos que subrayan la existencia de claras diferencias entre el LHPLN y la variante clásica del LH.

EPIDEMIOLOGÍA Y ETIOLOGÍA

Epidemiología descriptiva

A pesar de que la incidencia de los linfomas no hodgkinianos (LNH) se ha incrementado de manera progresiva desde la Segunda Guerra Mundial, la incidencia del LH no se ha modificado. Existen dos picos máximos en la incidencia del LH tanto en América del Norte como en la Europa Occidental: adultos jóvenes y pacientes ancianos. La incidencia del LH es muy baja en los niños y se incrementa de manera rápida y progresiva en la adolescencia, alcanzando su pico alrededor de los 25 años; posteriormente, las cifras descienden hasta llegar a una fase de *plateau* en edades medias de la vida, para aumentar de nuevo en las últimas décadas de la misma. Es una enfermedad de predominio masculino, especialmente en la infancia y en las décadas medias y últimas de la vida. En los llamados países «en vías de desarrollo», el pico de incidencia en los adultos jóvenes es menos importante o, eventualmente, inexistente. Algunos estudios epidemiológicos sugieren una asociación entre el tamaño reducido del núcleo familiar y otros factores que pueden dar lugar a una exposición retardada a infecciones víricas comunes.

Etiología

Factores genéticos

Agregación familiar

La agregación familiar y la susceptibilidad genética parecen desempeñar un papel importante en el desarrollo del LH. Se ha demostrado la existencia de un riesgo significativamente más elevado de desarrollar LH entre gemelos monocigotos, y no así en los bivitelinos, lo que sugiere una base puramente genética para el desarrollo de esta enfermedad.

Antígeno leucocitario humano

Estudios caso-control realizados en países escandinavos demostraron que individuos con los HLA A1, B5, B8 y B18 tenían riesgos relativos entre 1,3 y 1,5 de desarrollar la enfermedad con respecto a la población general.

El virus de Epstein-Barr (VEB) y el linfoma de Hodgkin

Diversos hallazgos sugieren que el VEB es un factor ambiental que contribuye a la oncogénesis del LH. El riesgo de desarrollar esta enfermedad es tres veces superior en pacientes que tienen una historia previa de mononucleosis infecciosa, una enfermedad de adolescentes causada por el VEB. En segundo lugar, está claramente demostrado que los pacientes con LH presentan títulos de anticuerpos contra el VEB elevados, tanto en el momento del diagnóstico como varios años antes del desarrollo del linfoma[9]. A pesar de que todos los estudios demostraban la existencia de una clara asociación entre el VEB y el LH, la prueba definitiva de la existencia de una relación causa-efecto aún no está definida.

La presencia de DNA del VEB en el tejido tumoral de pacientes con LH clásico constituye una prueba más definitiva de la relación entre este virus y el LH, como demostraron Weiss et al[10]. Estudios posteriores demostraron la presencia del VEB en, aproximadamente, el 50% de pacientes con LH clásico de países desarrollados. El patrón de expresión de los genes codificados por el VEB (proteínas latentes de membrana 1 y 2 –LMP1, LMP2– y EBNA1) en las células de Hodgkin y las células de Reed-Sternberg es característico de una infección viral latente (latencia tipo 2), y se parece al patrón que se encuentra de manera característica en el carcinoma nasofaríngeo endémico y en un subtipo de linfoma T muy poco frecuente[11-13] (figs. 28.2 y 28.3). El VEB posee una clara habilidad para la transformación, fundamentalmente a partir de la actuación de las diferentes proteínas de latencia de membrana. LMP1 mimetiza un receptor del CD40 constitutivamente activado, considerado una vía de señalización que da lugar a la activación de NFκβ en células B activadas por antígenos[14]. LMP2a anula la expresión de BCR, pero activa de manera

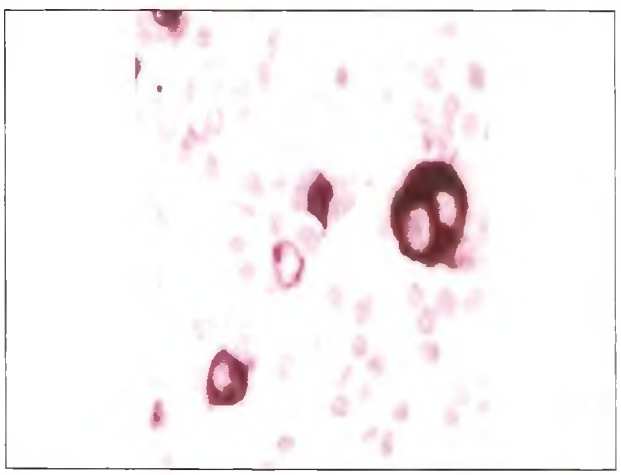


Figura 28.2. Determinación de la expresión de la proteína de latencia de membrana (LMP1) del virus de Epstein Barr (VEB) mediante técnicas de inmunohistoquímica en células de Reed-Sternberg en un paciente con EH (cortesía de Carmen Bellas, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Ramón y Cajal, Madrid).

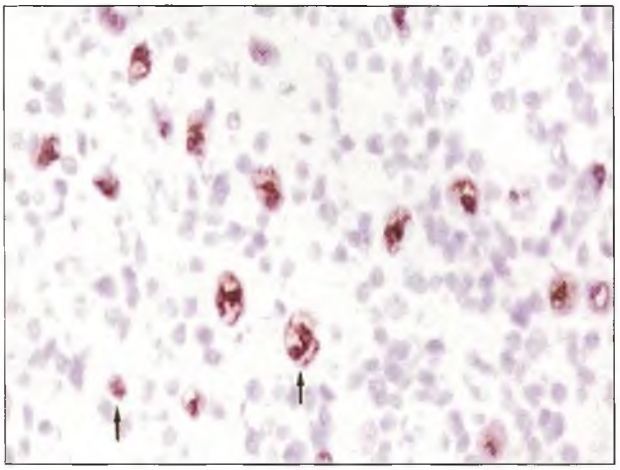


Figura 28.3. Expresión de los transcritos de RNA (EBER-1) mediante hibridación *in situ* en células de Reed-Sternberg y en linfocitos no neoplásicos en la EH (cortesía de Carmen Bellas, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Ramón y Cajal, Madrid).

constitutiva elementos de señalización posteriores, creando la necesidad a las células B (por otra parte desprovistas de su marcador esencial) de señales de supervivencia[15]. De esta manera, se puede entender cómo el VEB capacita a los precursores preapoptóticos de las células de Hodgkin y de Reed-Sternberg para sobrevivir en el centro germinal: LMP1 y LMP2a pueden imitar las señales estimulatorias de las células linfoides T de los alrededores y de las células dendríticas, dando lugar a la activación de NFκβ y a la posterior regulación de los genes antiapoptóticos. Esta regulación puede posteriormente inhibir la vía de señalización de FAS, permitiendo a los progenitores preapoptóticos de las células de Hodgkin y de Reed-Sternberg sobrevivir a la selección negativa en el centro germinal. La adquisición de otros cambios en los elementos reguladores importantes (ciclo celular, proliferación y apoptosis) puede dar lugar a la posterior expansión clonal.

PATOLOGÍA DEL LINFOMA DE HODGKIN

A lo largo de los años, se han ido desarrollando diferentes clasificaciones histopatológicas en el LH. En la clasificación histopatológica inicial de Jackson y Parker, se reconocen tres entidades diferentes: paragranuloma, granuloma y sarcoma. La clasificación de Lukes y Butler reconocía seis subtipos diferentes de LH: linfocítico y/o histiocítico (L&H) nodular, L&H difuso, esclerosis nodular, celularidad mixta, fibrosis difusa y reticular. Esta clasificación intentaba establecer categorías con importancia biológica y pronóstica, y estaba basada en dos principios básicos: la relación inversa existente entre el número de linfocitos maduros y las células de Reed-Sternberg, y el reflejo que esta correlación tenía en el estadio clínico y en el pronóstico.

En la clasificación de Rye se intentó reducir el número de categorías histopatológicas para disminuir su complejidad; así, las cuatro categorías que incluían menos casos quedaron reducidas a dos: la L&H difusa y nodular quedaron redenominadas como predominio linfocítico, y las formas mixta y reticular, en depleción linfoide. Esta clasificación ha sido utilizada de manera mayoritaria en todo el mundo en los últimos 25 años.

El Grupo Internacional para el Estudio de los Linfomas ha desarrollado una clasificación europeo-americana revisada de Linfomas, y la Sociedad Europea de Hematopatología, bajo los auspicios de la Organización Mundial de la Salud (OMS), ha establecido la más reciente clasificación del LH (tabla 28.1). Esta clasificación reconoce al LH como un linfoma de estirpe B, y permite utilizar el término LH de manera sinónima a enfermedad de Hodgkin, el LHPLN (con o sin áreas difusas) se reconoce como una entidad de características clínicas y pronósticas diferentes al resto de los subtipos, el subtipo de predominio linfocítico recibe en la actualidad el nombre de forma clásica rica en linfocitos, se separan del subtipo celularidad mixta todas las formas inclasificables y, por primera vez, se introduce el estudio inmunofenotípico en la valoración del LH.

TABLA 28.1

Clasificación del linfoma de Hodgkin según la OMS (1999)

LH predominio linfocítico nodular	9659/3
LH clásico	9650/3
Esclerosis nodular	9663/3
Celularidad mixta	9652/3
Rico en linfocitos	9651/3
Depleción linfoide	9653/3

Linfoma de Hodgkin clásico

Histopatología

El ganglio linfático de los pacientes con un LH clásico se caracteriza por la presencia de un número variable de células de Reed-Sternberg rodeadas de un ambiente celular inflamatorio muy rico. El diagnóstico de la variante clásica del LH viene dado por la identificación de las células de Hodgkin en un ambiente apropiado. Las células de Reed-Sternberg diagnósticas son células grandes, con grandes núcleos multinucleados o poliploides (fig. 28.1) que contienen un nucléolo eosinofílico grande, de unos 10 µm de diámetro. El citoplasma es generalmente abundante, de aspecto acidófilo, amfófilo o basófilo cuando se observan tinciones de hematoxilina-eosina. Las células lacunares son células de Reed-Sternberg mononucleadas, con un citoplasma amfófilo que se retrae en secciones fijadas con formalina, y son características de la variedad esclerosis nodular. Las células neoplásicas constituyen sólo una minoría del infiltrado celular, con una frecuencia del 0,1 al 10%. El infiltrado de fondo, llamado también «ambiente del LH», está constituido básicamente por linfocitos, pero también pueden observarse eosinófilos, neutrófilos, histiocitos, células plasmáticas y fibroblastos. La composición de este típico infiltrado celular de fondo varía en función del subtipo histológico. La afectación de otros órganos (hígado, bazo) se demuestra por la identificación de células mononucleares atípicas CD30 positivas y/o CD15 positivas. Sin embargo, no es necesaria la identificación de las células típicas multinucleadas de Reed-Sternberg.

Esclerosis nodular

Este subtipo histológico está caracterizado por la presencia de una o más bandas escleróticas que parten de la cápsula ganglionar y que están compuestas por colágeno maduro, laminado y relativamente acelular. Las diferentes bandas de colágeno existentes rodean a nódulos de tejido linfoide que contienen en su interior un número variable de células de Hodgkin (las más frecuentes, las células lacunares) e infiltrado celular reactivo (fig. 28.4). En la práctica clínica, es el subtipo histológico más frecuente en los países occidentales, y representa más del 60% de los casos diagnosticados.

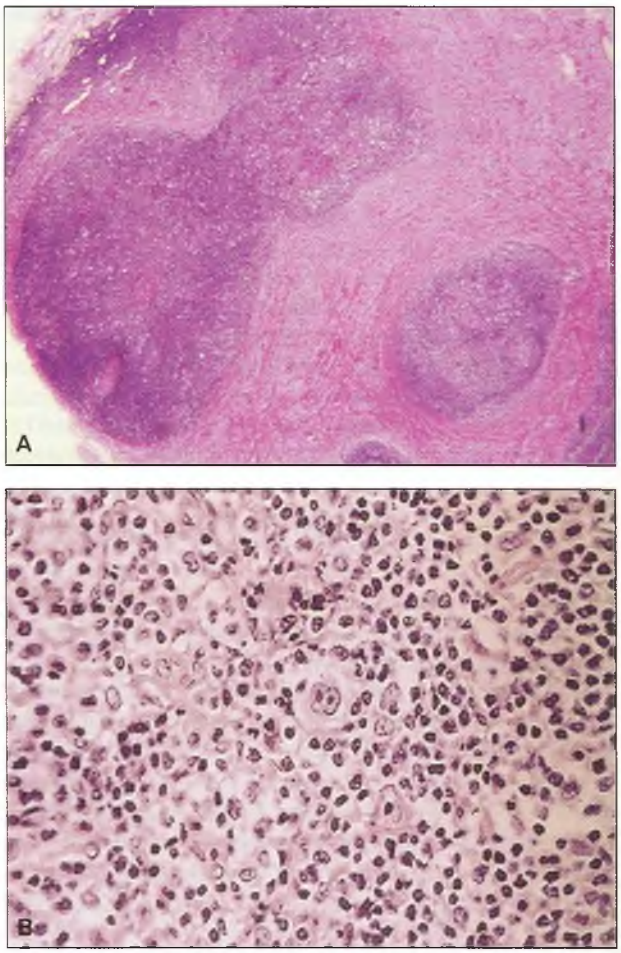


Figura 28.4. Enfermedad de Hodgkin subtipo histológico esclerosis nodular. *Figura 4A*. Extensa esclerosis y formación de nódulos. *Figura 4B*. Célula lacunar en un fondo rico en linfocitos, eosinófilos y células plasmáticas (cortesía de Íñigo Espinosa y Ramón Bordes, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona).

El Grupo Británico para la Investigación de los Linfomas (BNLI) ha establecido un sistema de gradación para los pacientes diagnosticados de LH clásico esclerosis nodular. En el grado 1, el 75% o más de los nódulos contienen células de Reed-Sternberg en un ambiente celular rico en linfocitos o con presencia de células fibrohistiocíticas. En el grado 2, al menos el 25% de los nódulos contienen un número elevado de células de Reed-Sternberg. Esta gradación no es necesaria desde el punto de vista del diagnóstico rutinario, pero puede ser utilizada a nivel investigacional. El LH clásico esclerosis nodular grado 2 corresponde a lo que se ha

denominado en algunos estudios como esclerosis nodular con depleción linfoide.

Celularidad mixta

Este subtipo representa el 20-25% de los casos de LH en países desarrollados, pero más del 60% en países en vías de desarrollo. A bajo aumento, puede identificarse una nodularidad vaga, pero no se observan bandas fibrosas claras como en el subtipo anterior. A gran aumento, se observa una heterogénea población celular compuesta por células de Hodgkin, linfocitos, eosinófilos, neutrófilos, histiocitos epitelioides y no epitelioides, células plasmáticas y fibroblastos (fig. 28.5). Las células de Reed-Sternberg diagnósticas y las mononucleares son, generalmente, fáciles de encontrar.

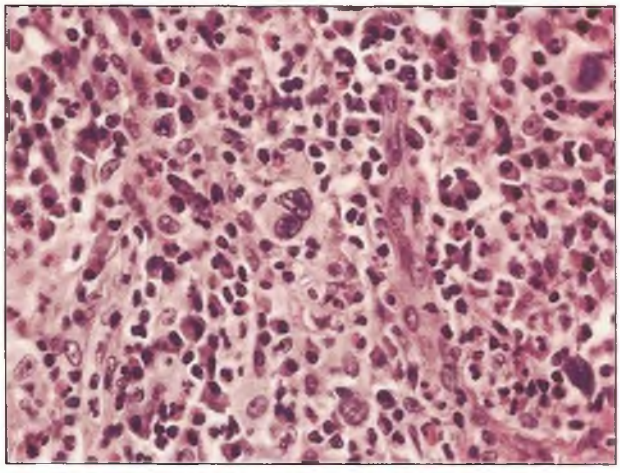


Figura 28.5. Enfermedad de Hodgkin subtipo histológico celularidad mixta. Células de Reed-Sternberg en un fondo de linfocitos, eosinófilos y células plasmáticas (cortesía de Íñigo Espinosa y Ramón Bordes, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona).

LH clásico rico en linfocitos, nodular o difuso

En este subtipo histológico pueden distinguirse dos patrones de crecimiento diferentes: uno, nodular, más frecuente, y otro, difuso, menos frecuente. En la variedad nodular, los nódulos ocupan la mayor parte del tejido afectado por lo que la zona T está prácticamente ausente entre los nódulos. Los nódulos están compuestos de linfocitos pequeños, y pueden contener en su interior centros germinales que están localizados de manera excéntrica y son relativamente pequeños. Las células de Reed-Sternberg están situadas en la zona expandida del manto, y pueden asemejarse en ocasiones a las células L&H o a las células mononucleares lacunares (fig. 28.6). Este subtipo histológico puede confundirse con facilidad con el LHPLN. El estudio inmunofenotípico es, en estos casos, imprescindible para realizar el diagnóstico diferencial entre ambas entidades.

Depleción linfoide

A pesar de que la morfología del LH depleción linfoide es muy variable, la característica que une a todos los casos es la relativa predominancia de las células de Reed-Sternberg sobre los linfocitos circundantes. Unos casos son similares a la celularidad mixta, pero con un número superior de

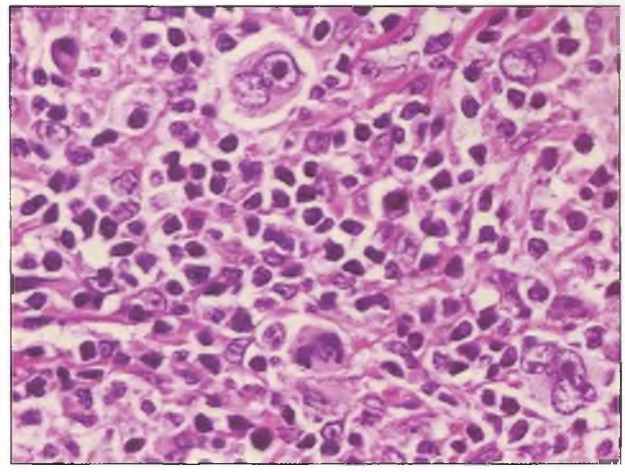


Figura 28.6. Enfermedad de Hodgkin subtipo histológico de predominio linfocítico clásica. Células de Reed-Sternberg mononucleares dispersas en un fondo con muchos linfocitos pequeños. Prácticamente no se observan células plasmáticas ni eosinófilos (cortesía de Íñigo Espinosa y Ramón Bordes, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona).

células de Reed-Sternberg. En otros casos, difíciles de diferenciar de las formas anaplásicas de los LNH difusos de células grandes, predominan las células de Reed-Sternberg pleomórficas. Otro patrón se caracteriza por la presencia de una fibrosis difusa, con o sin proliferación de fibroblastos y con poca presencia de células de Reed-Sternberg.

Inmunofenotipo

Las células de Reed-Sternberg son células CD30 en casi todos los casos[16,17] y expresan también el CD15[18,19] en la mayoría de los casos (75-85%) (fig. 28.7). Generalmente, no expresan el CD45 y son constitutivamente negativas para las cadenas J, el CD75 y los marcadores constitutivos de los macrófagos como el epítopo PG-M1 de la molécula CD68[20]. En aproximadamente el 40% de casos, puede detectarse expresión para el CD20, pero ésta es generalmente de intensidad variable y presente en una minoría de las células neoplásicas[21]. El antígeno CD79a, también asociado a línea B, es mucho menos frecuente. La naturaleza linfoide B de las células de Reed-Sternberg se demuestra también por la expresión de la proteína activadora específica de células B (BSAP), que está presente en el 90% de casos[22]. La expresión del antígeno epitelial de membrana (EMA) es infrecuente (sólo en el 5% de casos) y es débil. La mayor parte de las células de Reed-Sternberg expresan el antígeno de proliferación asociado al núcleo Ki-67 (tabla 28.2).

El LH clásico puede parecerse al linfoma anaplásico de células grandes. Su diferenciación se basa en la positividad de las células del LH clásica para BSAP, que siempre es negativo en el caso de los linfomas anaplásicos y por la negatividad de las células del LH al EMA y a la proteína ALK. La detección de la proteína LMP1 codificada por el VEB favorece el diagnóstico del LH. El diagnóstico diferencial más complejo se plantea con el LNH de células grandes B con morfología anaplásica. En estos casos puede existir una verdadera superposición biológica entre estos casos y el LH clásico.

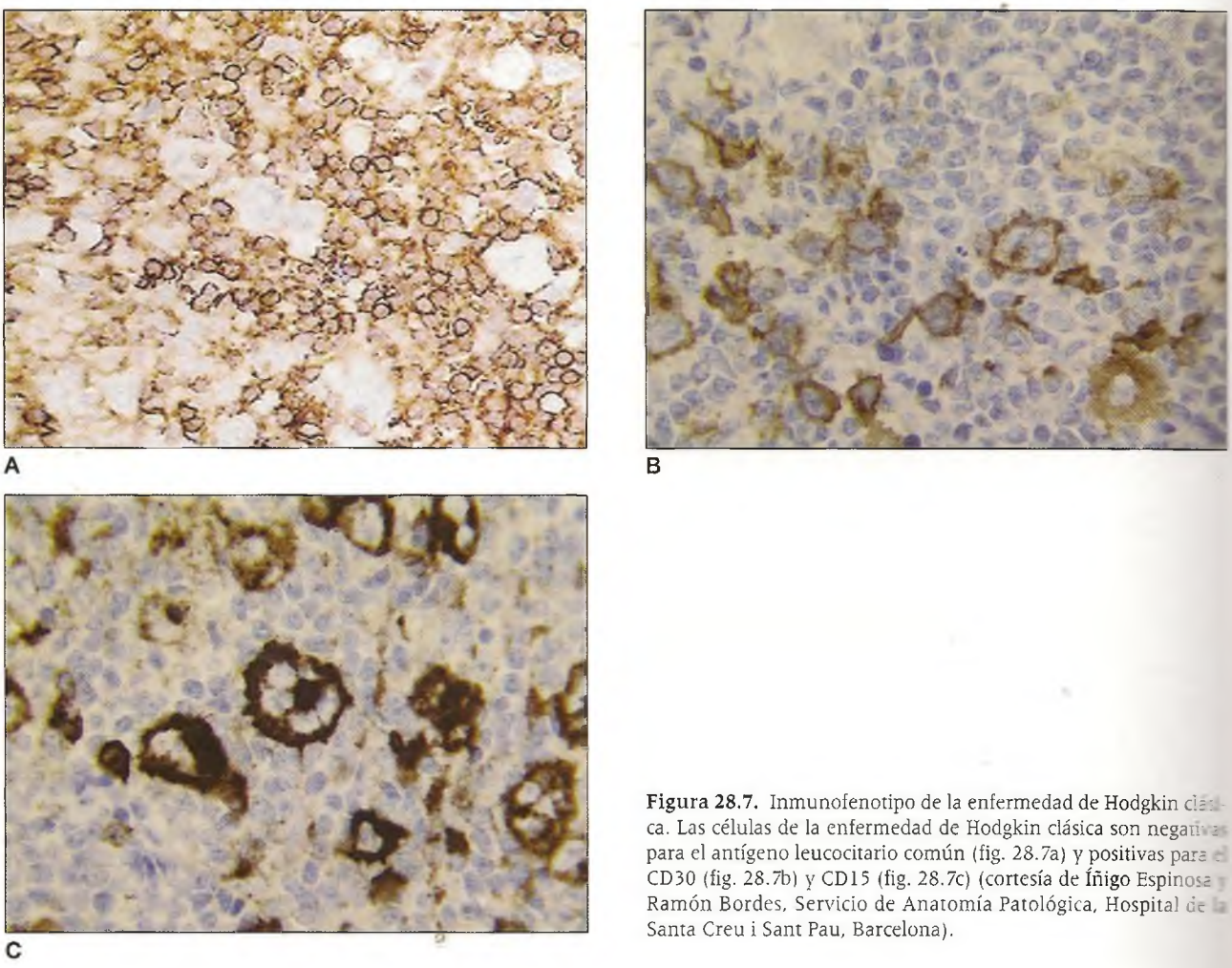


Figura 28.7. Inmunofenotipo de la enfermedad de Hodgkin clásica. Las células de la enfermedad de Hodgkin clásica son negativas para el antígeno leucocitario común (fig. 28.7a) y positivas para el CD30 (fig. 28.7b) y CD15 (fig. 28.7c) (cortesía de Íñigo Espinosa y Ramón Bordes, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona).

Histología e inmunofenotipo del linfoma de Hodgkin de predominio linfocítico nodular

La evolución del concepto de que el LHPLN representaba una entidad clínico-patológica distinta culminó en 1994 cuando se propuso una nueva clasificación de las neoplasias linfoides llamada clasificación REAL (*Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms*).

A pequeño aumento, la arquitectura normal del ganglio se encuentra completamente borrada. La cápsula suele estar intacta, la fibrosis es poco frecuente y en la mayor parte de los casos se puede distinguir un patrón nodular. La característica celular del LHPLN es la presencia de una mezcla de linfocitos e histiocitos. Los eosinófilos y neutrófilos son poco frecuentes, al igual que las células plasmáticas. Las células neoplásicas son las células L&H, que generalmente se encuentran fuera de los nódulos (fig. 28.8). Estas células parecen centroblastos, pero son más grandes, tienen núcleos lobulados y nucléolos basófilos de tamaño pequeño o intermedio. Las células de Reed-Sternberg del LH clásico son escasas o inexistentes.

Las células L&H son positivas para el CD20[23,24], CD79a, BCL6 y CD45 en casi todos los casos, para la cadena J[25], el CD75 en la mayor parte de los casos, y para el EMA en aproximadamente el 50% de casos[26]. Las células L&H no expresan el CD15 y el CD30 en la mayor parte de los casos (figura 28.9). La utilización de técnicas de marcaje para Oct2 permite visualizar de manera selectiva las células L&H. Oct2 es un factor de transcripción que induce la síntesis de inmunoglobulinas mediante la activación del promotor del gen de las inmunoglobulinas en conjunción con su coactivador BOB.1[27]. Oct2 y BOB.1 también pueden ser útiles para diferenciar el LH clásico del LH de predominio linfocítico nodular, puesto que ambas moléculas están constitutivamente presentes en las células L&H, mientras que están generalmente ausentes en las células de Reed-Sternberg del LH clásico.

El trasfondo arquitectónico del LHPLN está compuesto por grandes tramas espirales de células dendríticas foliculares, rellenas por células linfoides B de pequeño tamaño y numerosas células T CD57 positivas.

EVALUACIÓN CLÍNICA Y ESTADIAJE DEL LINFOMA DE HODGKIN

Estadiaje

La clasificación de Ann Arbor (v. tabla 27.1)[28] se desarrolló en un intento de establecer una base racional al diagnóstico para adoptar decisiones terapéuticas curativas en el paciente

TABLA 28.2

Diagnóstico diferencial del linfoma de Hodgkin. Comparación entre diferentes inmunofenotipos tumorales

Marcador	LHPLN	LNH B rico en células T	LHC	LNH difuso de células grandes B	Linfoma anaplásico de células T
CD30	–[1]	–[1]	+	–/+[2]	+
CD15	–	–	+/–	–	–[3]
CD45	+	+	–	+	+/–
CD20	+	+	–/+[4]	+	–
CD75a	+	+	–/+[1]	+	–
BSAP	+	+	+[5]	+	–
Cadena J	+/–	+/–	–	–/+	–
Ig	+/–	+/–	–[6]	–/+	–
Oct2	F+	F+	–/+[7]	+	ND
BOB.1	+	+	–[7]	+	ND
CD3	–	–	–[1]	–	–/+
CD2	–	–	–[1]	–	+/–
Perforina/granzima B	–	–	–[1]	–	+[8]
CD43	–	–	–	–/+	+/–
EMA	+/–	+/–	–[9]	–/+[10]	+/–
ALK	–	–	–	–	+/–

LHPLN: linfoma de Hodgkin de predominio linfocítico nodular; LHC: linfoma de Hodgkin clásico.
+ = todos los casos son positivos; +/– = mayoría de los casos positivos; –/+ = minoría de los casos positivos; – = todos los casos son negativos; F = expresión fuerte.

[1]Positivo en raros casos.

[2]Expresión prominente en la variante anaplásica y expresión variable en el subtipo de LNH de células grandes B mediastínico.

[3]Casos ocasionales pueden mostrar positividad focal.

[4]Presente en el 40% de casos, pero generalmente expresado en una minoría de células tumorales con intensidad variable.

[5]Hasta el 10% de casos pueden ser negativos.

[6]La frecuente positividad para la IgG y para ambas cadenas ligeras refleja la captación de estas proteínas por parte de las células tumorales más que su síntesis.

[7]Expresión fuerte en menos del 5% de casos.

[8]Sólo una pequeña minoría son negativos.

[9]Puede verse una expresión débil en las células tumorales en el 5% de casos.

[10]Más frecuentemente observado en el LNH difuso de células grandes B con morfología anaplásica.

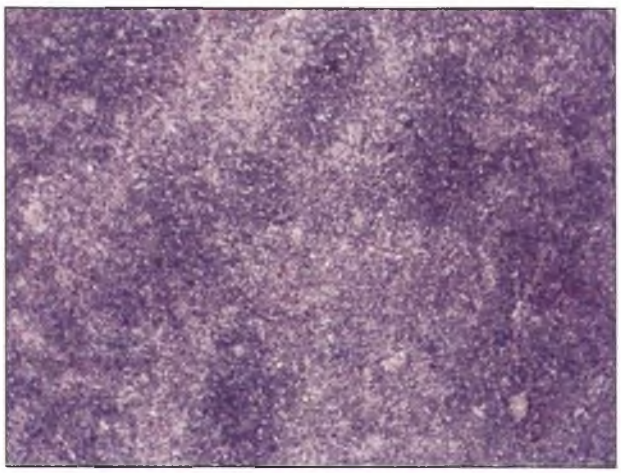


Figura 28.8. Enfermedad de Hodgkin de predominio linfocítico nodular. Se observan múltiples nódulos grandes y oscuros, con fusión focal de algunos de ellos (cortesía de Íñigo Espinosa y Ramón Bordes, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona).

y fue rápidamente adoptada por toda la comunidad científica. Los pacientes se subdividían en cuatro grupos en función del número de regiones afectadas, de la existencia de regiones ganglionares afectadas a ambos lados del diafragma y de la afectación extraganglionar. Asimismo, todos los casos seguían siendo subclasificados en A o B, en función de la existencia de los llamados síntomas B: sudoración nocturna, fiebre y/o pérdida no explicada del 10% o más del peso corporal en los 6 meses previos. El prurito, considerado previamente como otro síntoma B, ya fue excluido en la clasificación de Ann Arbor porque había demostrado tener escasa o nula influencia pronóstica. En la reunión de Costwods[29] (v. tabla 27.1) se mantuvieron las líneas generales de estadiaje del LH establecidas en la reunión de Ann Arbor, con una serie de modificaciones: legitimización del uso de la tomografía computarizada (TC) para la detección de enfermedad intraabdominal, redefinición de la afectación clínica hepática y esplénica, introducción de manera formal del concepto de enfermedad voluminosa y, finalmente, llamar la atención sobre el concepto de la remisión completa (RC) no definida.

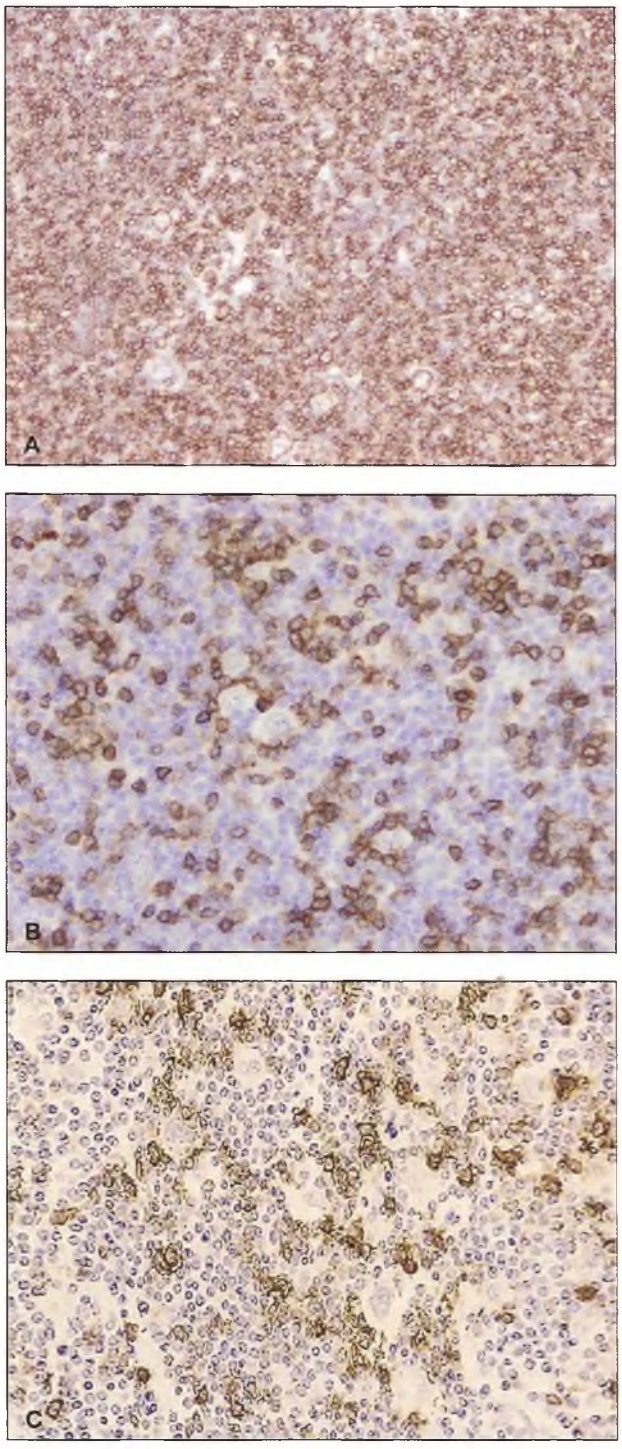


Figura 28.9. Inmunofenotipo de la enfermedad de Hodgkin de predominio linfocítico nodular. La arquitectura nodular se encuentra acentuada porque los nódulos son ricos en linfocitos CD20 positivos (fig. 28.9a). La tinción para CD3 demuestra las rosetas de células T alrededor de las células tumorales (fig. 28.9b). Algunas de estas células son CD57 positivas (fig. 28.9c) (cortesía de Íñigo Espinosa y Ramón Bordes, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona).

Evaluación clínica pretratamiento

Historia clínica y examen físico

Es necesario obtener una historia clínica completa del paciente que especifique edad, sexo, presencia de fiebre inexplicada y su duración, pérdida de peso no explicada, existencia o no de prurito, severidad y extensión. El examen físico debe ir encaminado a descartar la existencia de adenopatías en las diferentes regiones anatómicas.

Síntomas y signos

Algunos pacientes debutan con enfermedad sintomática, pero la sintomatología es generalmente inespecífica. Sin embargo, en el 70% de casos, el LH se inicia en un individuo adulto asintomático que presenta una adenopatía aumentada de tamaño. La adenopatía suele estar localizada en la región cervical baja, fosa supraclavicular, región cervical alta o axilar. La afectación inguinofemoral inicial es menos frecuente. Otra forma no infrecuente de presentación es la demostración de una masa mediastínica en una radiografía simple de tórax, en un individuo, por otro lado, asintomático. Son típicos del LH la fiebre, la sudoración nocturna, la pérdida de peso y el prurito cutáneo más o menos generalizado. La llamada fiebre de Pel-Ebstein es la típica del LH; se trata de una fiebre intermitente que recurre en intervalos variables de días o semanas y que dura una o dos semanas antes de desaparecer. El prurito cutáneo, aunque no es específico y actualmente no se considera síntoma B, puede preceder en ocasiones varios meses al diagnóstico de la enfermedad.

Las características clínicas al diagnóstico, al igual que la evolución posterior, difieren entre el LH clásico y el LHPLN (tabla 28.3). En esta última variedad, la mayoría de los pacientes debutan en estadios localizados (estadios I y II) con adenopatías periféricas. Sólo del 5 al 20% de los pacientes presentan estadios avanzados al diagnóstico. El LHPLN presenta un curso evolutivo lento, caracterizado por recaídas frecuentes que, generalmente, responden al tratamiento. Eventualmente, su capacidad de transformación a un LNH de células grandes B es superior a la que se observa en el LH clásico.

La afectación ganglionar inicial más frecuente del LH clásico es la cervical (75% de casos) seguida de la afectación mediastínica, axilar y de la región paraaórtica. Los paquetes

TABLA 28.3

Características clínicas diferenciales entre el LH con predominio linfocítico nodular y el LH clásico

	LHPLN (%)	LH clásico (PL) (%)	LH clásico EN (%)	LH clásico CM (%)
Edad > 50 años	18	32	10	
Sexo masculino	74	69	49	
Estadios				21
I-II	53	46	10	73
III-IV	20	30	43	
Afectación mediastínica	7	15	80	21
Afectación voluminosa	13	11	54	48
Síntomas B	10	11	42	40
Recaídas	21	17		40
Recaídas múltiples	40	< 1		35
Transformación a LNH	3-6	?	< 1	< 1

CM: celularidad mixta; EN: esclerosis nodular; LHPLN: linfoma de Hodgkin con predominio linfocítico nodular; PL: predominio linfocítico.

De Anagnostopoulos et al. Blood 2000; 96:1889.

ganglionares no axiales, como los mesentéricos y los epitrocleares, están afectados sólo en un muy pequeño porcentaje de pacientes. La afectación extranodal primaria también es poco frecuente, y el 55% de los pacientes debutan con enfermedad localizada (estadios I y II). Aproximadamente el 60% de los pacientes con el subtipo histológico esclerosis nodular presentan afectación mediastínica al diagnóstico. La afectación esplénica es relativamente frecuente (20%) y se asocia a un mayor riesgo de afectación extranodal. La afectación de médula ósea (MO) es mucho menos frecuente, y denota la existencia de enfermedad diseminada (estadio IV). Hasta el 40% de los pacientes presentan sintomatología B al diagnóstico.

También presentan ciertas diferencias clínico-epidemiológicas las diferentes variedades histológicas incluidas dentro del término LH clásico (tabla 28.3). Así, la esclerosis nodular es el subtipo más frecuente, y comprende el 70% de los pacientes con LH clásico. La mediana de edad al diagnóstico es de 28 años y, aproximadamente el 50% de los pacientes, son hombres. La afectación mediastínica se observa en el 80% de los pacientes, y la afectación voluminosa, en el 54%. El 10% de los pacientes presentan afectación esplénica o hepática al diagnóstico, la afectación de MO se observa en menos del 3% de los pacientes y el 40% de los mismos presentan sintomatología B al diagnóstico. La variedad histológica celularidad mixta comprende el 20-25% de todos los pacientes con LH clásico. Es una variedad más frecuente en la población de pacientes positiva para el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) adquirida y en los países en vías de desarrollo. La mediana de edad es superior a la de la esclerosis nodular, 37 años, y el 70% de los pacientes son hombres. A diferencia de la esclerosis nodular, los pacientes con celularidad mixta presentan con mayor frecuencia estadios avanzados (III o IV) al diagnóstico, los síntomas B son más frecuentes, el bazo está afectado en el 30% de casos, la MO en el 10%, el hígado en el 3%, y otros órganos en el 1-3% de casos. La variedad rica en linfocitos constituye el 5% de todos los casos de LH clásico. La mediana de edad al diagnóstico es superior a las dos variedades anteriores, y el 70% de los pacientes son hombres. La afectación mediastínica y la enfermedad voluminosa en esta misma localización son infrecuentes (15 y 11%, respectivamente). La variedad depleción linfoide es la menos frecuente (menos del 5% de todos los casos). La mediana de edad de estos pacientes es de 37 años, y el 75% son hombres. Este subtipo se asocia con frecuencia al VIH, y es más frecuente en las zonas en desarrollo. Con cierta frecuencia se afectan de manera selectiva los órganos abdominales, adenopatías retroperitoneales y la MO. Por el contrario, es más infrecuente la afectación mediastínica. El 70% de los pacientes debutan con estadios avanzados, y el 80% presentan sintomatología B.

Pruebas complementarias para el estudio de extensión

Para realizar el diagnóstico de certeza es necesaria la obtención de una muestra adecuada de adenopatía; si es posible, es importante analizar la pieza entera, evitar el análisis de las adenopatías inguinales si existen otras adenopatías periféricas de similar tamaño, y confirmar el diagnóstico de LH con una biopsia ganglionar si éste inicialmente se ha hecho a partir de la biopsia de una afectación extranodal.

La analítica debe incluir un hemograma con velocidad de sedimentación globular (VSG) y una fórmula leucocitaria, una bioquímica completa con función renal y hepática, dosificación de albúmina sérica y LDH. La alteración de las pruebas de función hepática no es indicativa en todos los casos de existencia de infiltración en este órgano. La afectación de MO por LH se observa hasta en el 5% de los pacientes, y está relacionada con el estadio clínico. Actualmente, se recomienda realizar una biopsia de MO al menos unilateral a todos aquellos pacientes con sintomatología B, estadios clínicos III y IV, enfermedad voluminosa o citopenias en sangre periférica.

La investigación radiológica debe incluir radiografía simple de tórax (posteroanterior y lateral) y TC de tórax, abdomen y pelvis, con contraste intravenoso si es necesario. La TC torácica es complementaria a la radiografía simple de tórax, pero permite una mejor identificación de la afectación mediastínica y su relación con las estructuras adyacentes. La TC abdominal tiene el inconveniente de no detectar bien la afectación retroperitoneal por encima de la mesentérica superior, y la afectación hepática o esplénica, a no ser que las lesiones tengan un tamaño grande, situación que se da en, aproximadamente, el 20% de los pacientes.

La gammagrafía con ^{67}Ga, sobre todo si va acompañada de SPECT (*single-photon emission computed tomography*) se ha convertido en un método de imagen ampliamente utilizado como complemento de la TC para realizar el estudio de extensión y seguimiento de la enfermedad, para discriminar la naturaleza linfomatosa o no de las masas, y como herramienta pronóstica mediante la monitorización de la eficacia del tratamiento. En la afectación mediastínica, tiene un 80 a 90% de especificidad, siendo de menor utilidad para la valoración abdominal y de la pelvis, con una especificidad del 60% o inferior. Existen falsos positivos en los casos de mala preparación para la técnica o de infección activa, y falsos negativos cuando se ha administrado quimioterapia (QT) recientemente (mínimo de 3 semanas antes), cuando las lesiones contienen áreas necróticas o en casos de lesiones pequeñas (< 2 cm de diámetro).

Recientemente, la tomografía por emisión de positrones (PET) ha sido introducida en el manejo de los pacientes con linfoma (fig. 28.10). Puesto que la PET está basada en la detección de alteraciones metabólicas presentes en las células neoplásicas, esta exploración puede dar información que es independiente de la presencia de alteraciones en las estructuras anatómicas normales. Además, la posibilidad de realizar una exploración de todo el organismo en un solo examen sin incrementar la cantidad de radiación administrada, hace de la PET una técnica ideal para controlar periódicamente a los pacientes de depósitos cancerosos. El trazador utilizado con mayor frecuencia es el análogo de la glucosa, 6-fluorodeoxiglucosa (FDG). La utilización de la FDG como trazador se basa en el hecho de que las células neoplásicas tienen una captación incrementada en relación a las células normales. Con la excepción de los linfomas MALT y de los linfomas linfocíticos de células pequeñas, todos los linfomas incluyendo el LH, presentan una captación aumentada de la FDG[30]. Muchos estudios han evaluado el papel de la PET en el estudio de extensión inicial de los linfomas. En comparación con la gammagrafía con ^{67}Ga, la PET tiene una sensibilidad más elevada (fundamentalmente, en abdomen y hueso), supone menor dosis de irradiación y un período de examen más corto (2 horas para el PET frente a 3 días para la gammagrafía). Comparada con la TC[31], la PET es más sensi-

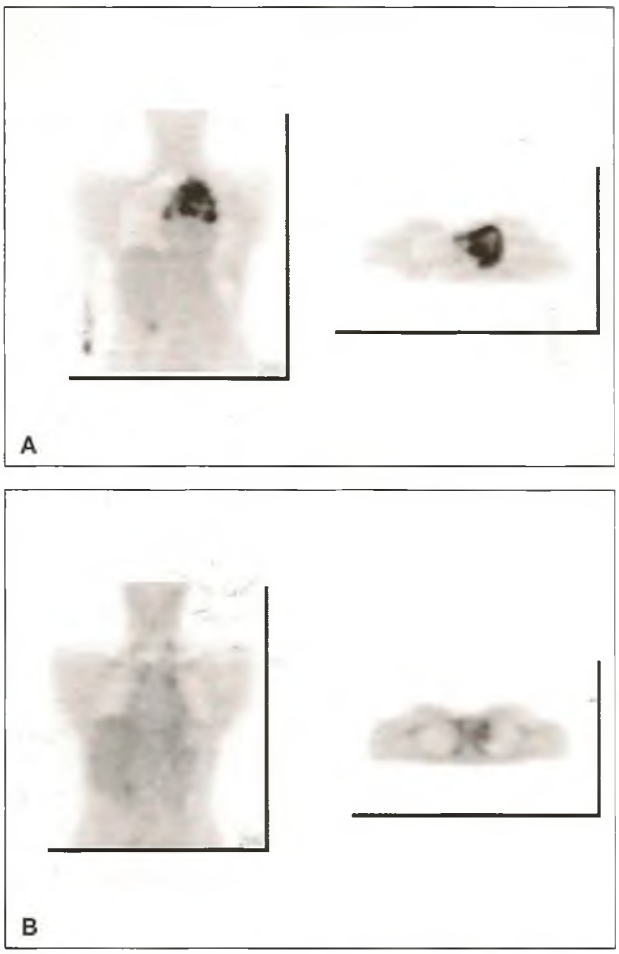


Figura 28.10. Utilidad de la tomografía por emisión de positrones (PET) para el seguimiento de los pacientes con LH (figs. *10a y 10b*). En el corte coronal de la PET se observa afectación pulmonar izquierda antes de iniciar el tratamiento que desaparece tras la administración de quimioterapia (cortesía de Marc Simó, Servicio de Medicina Nuclear, Hospital de la Vall d'Hebrón, Barcelona).

ble para la detección de afectación nodal y extranodal (especialmente, en hueso y bazo), aunque en ocasiones pueden observarse lesiones patológicas por TC pero negativas utilizando la PET. En ocasiones, una elevada captación de FDG por parte de la grasa parda cervical o de los músculos, puede dificultar la interpretación de captaciones patológicas en cuello, cabeza o región mediastínica. Además, la captación fisiológica de la FDG a nivel intestinal y del sistema excretor renal puede oscurecer la valoración de ganglios linfáticos linfomatosos en regiones adyacentes. Por ello, se preconiza la utilización conjunta de TC y PET para conseguir una valoración óptima. Naumann et al[32] analizaron el impacto terapéutico potencial de la utilización de la PET en el estadiaje inicial de pacientes con LH. En 70 pacientes de los 88 analizados se encontró concordancia entre los resultados de la TC y los de la PET (80%). En 11 pacientes (13%) con enfermedad diagnosticada en estadios iniciales, la PET detectó lesiones adicionales que hubieran supuesto la intensificación inicial del tratamiento. Considerando sólo pacientes en estadios IA-IIB (n = 44), el tratamiento se hubiera intensificado en un 20% de los mismos. Comparada con pruebas diagnósticas convencionales, la PET disminuyó el estadiaje inicial en 7 pacientes (8%), pero esto sólo fue correcto en uno de ellos. Estos falsos negativos hubieran reducido la intensidad del tratamiento inicial en 6 pacientes (7%). Por tanto, la PET no debe utilizarse como técnica única en el estadiaje inicial sino en combinación con las técnicas convencionales.

Trabajos recientes han demostrado la efectividad de la PET en la evaluación de las masas residuales presentes después de finalizar el tratamiento inicial[33-35]. En la mayor parte de estos estudios la PET ha demostrado poseer un valor predictivo negativo muy elevado (81-100%), lo que demuestra la habilidad de la PET para identificar a aquellos pacientes con un excelente pronóstico. El valor predictivo positivo (VPP) de la PET es más variable (25-100%). Este hecho puede ser debido a varios factores: el momento de realización de la PET con respecto a la finalización del tratamiento es crucial. Si se realiza justo después de la finalización de la RT, los cambios inflamatorios secundarios a esta última pueden dar lugar a una interpretación falsamente positiva. Por ello, el momento óptimo para la realización de la PET es a los 3 meses de completar el tratamiento. En segundo lugar, la hiperplasia tímica frecuentemente presente en los pacientes con LH puede dar lugar a resultados falsamente positivos. Finalmente, y en tercer lugar, pueden existir también resultados falsamente positivos por captaciones elevadas de FDG por parte de la musculatura cervical y grasa parda presente en los pacientes jóvenes. Cuando las imágenes de la PET son valoradas por expertos y en combinación con los hallazgos de la TC, el VPP de la PET alcanza el 80% observado en los pacientes con LNH.

Finalmente, la PET ha sido utilizada para valorar respuestas precoces al tratamiento de primera línea, y antes del trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TASPE). En la primera situación, una positividad persistente de la PET después de los dos primeros ciclos de QT se encuentra asociada con una elevada probabilidad de recaída tras finalizar el tratamiento (VPP del 67-100%). A pesar de que estos datos están mucho más analizados en el contexto del LNH, datos preliminares de Mikhaeel et al demuestran similares resultados en pacientes con LH[36]. Todos los pacientes con persistencia de la positividad de la PET tras la mitad del tratamiento de primera línea recayeron al acabarlo, en comparación con sólo dos de los 26 que eran negativos en la valoración precoz. Algunos grupos[37,38] han investigado el papel de la PET para identificar aquellos pacientes que pueden beneficiarse de un TASPE. Una vez más, la PET posee un VPP elevado: los pacientes con una PET positiva pre-TASPE tienen una supervivencia libre de progresión (SLP) más baja. Este VPP es superior si la PET se realiza justo antes del TASPE que si se realiza durante la administración de la QT intensiva (> 87 *vs.* 65%)[38].

Papel de la laparotomía exploradora en el estadiaje del linfoma de Hodgkin

La laparotomía exploradora ha contribuido enormemente al conocimiento y manejo del LH y, en realidad, ninguna de las nuevas exploraciones radiológicas introducidas en el diagnóstico del LH han sido capaces de reemplazarla. La mayor desventaja de todos estos estudios ha sido su incapacidad para diagnosticar adecuadamente la existencia de enfermedad en el bazo. Si embargo, la combinación de las técnicas de imagen modernas con los diferentes factores pronósticos existentes en la actualidad han llegado a sustituir casi por

completo la laparotomía que, por otro lado, es una técnica cruenta, que requiere hospitalización y no exenta de morbilidad significativa a corto y largo plazo.

FACTORES PRONÓSTICOS EN EL LINFOMA DE HODGKIN

A lo largo de los últimos años ha quedado claro que el sistema de estadiaje de Ann Arbor no puede constituir la única herramienta pronóstica en esta enfermedad, y en la actualidad se reconocen otras características de importancia pronóstica relacionadas mayoritariamente con la extensión y el volumen de la enfermedad.

Factores pronósticos para estadios iniciales

A pesar del enorme esfuerzo realizado en la definición de factores pronósticos clínicamente relevantes y aceptables desde el punto de vista general, el estadio según la clasificación de Ann Arbor y la presencia de sintomatología B (fiebre, sudoración nocturna y pérdida de peso) son aún los dos determinantes más importantes para estratificar a los pacientes con LH. Recientemente, la presencia de enfermedad voluminosa al diagnóstico (> 10 cm) ha emergido como el tercer gran factor pronóstico. En Estados Unidos, la mayor parte de los centros tratan a los pacientes de acuerdo con las clasificaciones pronósticas tradicionales de estadios iniciales (I-IIA o B) y estadios avanzados (III-IVA o B; I-IIB con enfermedad voluminosa).

En la mayor parte de los centros o grupos de estudio, los pacientes con estadios I-IIA, estadios iniciales, son tratados con tratamiento combinado, QT/RT. Constituye una excepción el LHPLN, que debuta en estadios iniciales IA sin factores de riesgo añadidos, que puede ser tratado con escisión quirúrgica del ganglio linfático afectado, seguido de una actitud de «esperar y ver» o con RT en el campo afectado (20 a 30 Gy). Los pacientes con LHPLN en estadios IIIB o IV o con enfermedad voluminosa o sintomatología B, en estadios avanzados, presentan un peor pronóstico y son generalmente tratados con 6-8 ciclos de QT, en ocasiones asociados con RT complementaria. Su pronóstico no difiere demasiado de los pacientes con LH que debutan con estadios similares.

En la actualidad, se utilizan otros factores pronósticos para clasificar a los pacientes que debutan en estadios iniciales en I-II en un subgrupo con un pronóstico más desfavorable. En este sentido, en Europa, tanto el Grupo Alemán para el Estudio de la Enfermedad de Hodgkin (GHSG) como la Organización Europea para el Estudio y el Tratamiento del Cáncer (EORTC) han subdividido a los pacientes en estadios I y II iniciales en los de pronóstico favorable o desfavorable en función de la presencia o ausencia de una serie de factores adversos (tabla 28.4).

El Grupo de Ensayos Clínicos Canadiense y el ECOG subdividen a los pacientes con LH en estadios iniciales en dos categorías: bajo riesgo, LHPLN y subtipo histológico esclerosis nodular, edad inferior a 40 años, VSG inferior a 50, afectación de tres o menos regiones linfáticas diferentes, y alto riesgo, y el resto de los estadios I-II, excluyendo a los pacientes con enfermedad voluminosa.

Por lo que respecta a los pacientes que debutan en estadios avanzados, la EORTC incluye en este subgrupo los estadios III y IV sólo, con independencia de otros factores pronósticos, como hace el Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos y otros grupos cooperativos estadounidenses. En el GHSG, todos los pacientes en estadios III y IV, así como los pacientes en estadio IIB con masa voluminosa mediastínica o lesiones extranodales se incluyen dentro del término «estadios avanzados». Algunos otros grupos cooperativos incluyen estadios I-IIB con masa voluminosa, dentro del término de enfermedad avanzada.

Factores pronósticos para estadios avanzados

Los tratamientos actuales utilizados en el LH en estadios avanzados son incapaces de curar aproximadamente a un tercio de los pacientes diagnosticados de esta patología y, de igual modo, un porcentaje similar de pacientes podrían haber estado tratados más de lo necesario con estos mismos protocolos terapéuticos. Este último problema resulta obvio

TABLA 28.4

Factores de riesgo para LH en estadios iniciales y grupos de tratamiento para la EORTC/GELA y GHSG

	EORTC/GELA	GHSG
Factores de riesgo	A. Masa mediastínica voluminosa B. Edad ≥ 50 años C. VSG elevada* D. ≥ 4 regiones ganglionares afectadas	A. Masa mediastínica voluminosa B. Afectación extranodal C. VSG elevada* D. ≥ 3 regiones ganglionares afectadas
Grupos de tratamiento		
PL	PLN, estadios I-II supradiafragmáticos, no FR	PLN, estadios I-II, no FR
Estadios iniciales favorables	Estadios I-II supradiafragmáticos, no FR	Estadios I-II, no FR
Estadios iniciales desfavorables	Estadios I-II supradiafragmáticos, ≥ 1 FR	Estadios I-IIA, ≥ 1 FR Estadio IIB con C/D pero no A/B
Estadios avanzados	Estadios III-IV	Estadio IIB con A/B Estadios III-IV

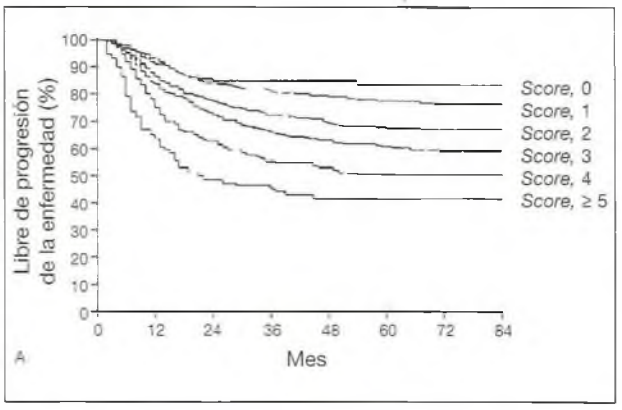
EORTC/GELA: Organización Europea para el Estudio y Tratamiento del Cáncer/Grupo Francés para el Estudio de los Linfomas del Adulto; GHSG: Grupo Alemán para el Estudio del Linfoma de Hodgkin; PL: predominio linfocítico; PLN: predominio linfocítico nodular; FR: factores de riesgo.

* Velocidad de sedimentación globular (≥ 50 sin o ≥ 30 con síntomas B).

al observar remisiones prolongadas en pacientes que deben suspender el tratamiento quimioterápico por efectos secundarios tras dos a seis ciclos de QT o en aquellos que reciben esquemas de intensidad reducida siguiendo una aproximación terapéutica individualizada.

Por estos motivos, la predicción de los resultados del tratamiento puede permitir la identificación de pacientes que, eventualmente, se beneficien de una «forma reducida de tratamiento» o que, probablemente, no conseguirán una RC mantenida con el tratamiento quimioterápico estándar. Existe mucha información en la literatura acerca de los factores pronósticos válidos para el LH en estadios avanzados, y algunos grupos desarrollaron índices pronósticos para la supervivencia global (SG) según datos obtenidos de grupos de pacientes de tamaño moderado. Más recientemente, se ha utilizado The International Database on Hodgkin's Disease para desarrollar un modelo paramétrico que permitía predecir la supervivencia en pacientes en estadios avanzados al diagnóstico[39]. Para la construcción de este índice pronóstico se utilizaron datos de 5.141 pacientes con EH en estadios avanzados y tratados con QT con o sin RT complementaria, procedentes de 25 centros y grupos cooperativos. Los datos incluían resultados en términos de supervivencia y 19 características clínicas y demográficas al diagnóstico. El índice pronóstico fue definido como el número de factores pronósticos adversos presentes al diagnóstico. Se identificaron siete factores con un efecto pronóstico adverso independiente similar: sexo masculino, albúmina sérica inferior a 4 g/dL, nivel de hemoglobina inferior a 10,5 g/dL, edad superior a 45 años, estadio IV (de acuerdo con la clasificación de Ann Arbor), leucocitosis que superaba los 15×10^9/L y linfocitopenia (< $0,6 \times 10^9$/L, una cifra inferior al 8% o bien ambas) (tabla 28.5). La adición de un factor pronóstico adverso suponía la reducción en el 7-8% de la curva de supervivencia libre de progresión (SLP), siendo ésta del 84% para los pacientes sin factores de mal pronóstico al diagnóstico (7% de la población global) y 42% para los pacientes con cinco o más factores de mal pronóstico (7% también de la población global) (fig. 28.11).

Este índice pronóstico puede ser eventualmente útil en el diseño de estudios clínicos para el tratamiento del LH en estadios avanzados y en el establecimiento de decisiones terapéuticas individualizadas. En este sentido, se están empezando a analizar de manera retrospectiva los resultados en términos de supervivencia de los pacientes con LH en estadios avanzados, tratados dentro de protocolos multicéntricos prospectivos en función del número de factores de mal pronóstico, según el índice de Hasenclever y Diehl, estableciendo como punto de corte la existencia de tres o más factores de mal pronóstico. De todas maneras, y a pesar de lo que se pensó inicialmente, este índice pronóstico no es capaz de identificar un subgrupo de pacientes de especial mal pronóstico potencialmente subsidiarios de terapéuticas diferenciadas.



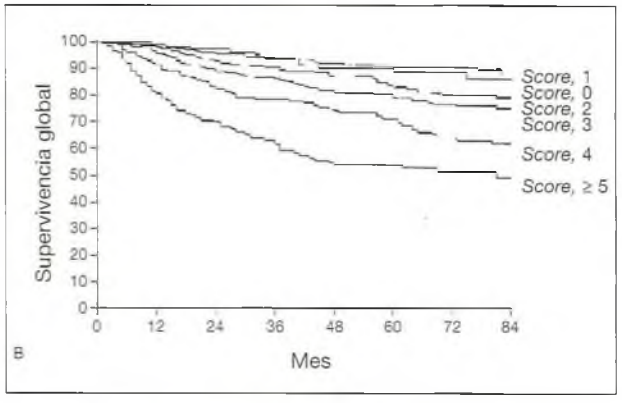


Figura 28.11. Índice pronóstico para pacientes con LH en estadios avanzados tratados con QT. Figura 11a. Utilización del índice pronóstico para predecir la supervivencia libre de progresión en 1.618 pacientes con LH avanzada. Figura 11b. Supervivencia global en el mismo grupo de pacientes.

En conclusión, esta subdivisión inicial de los pacientes con LH en tres niveles, estadios localizados favorables, localizados desfavorables y avanzados, constituye un instrumento válido para estratificar el tratamiento en función de los conocimientos actuales. Puesto que los factores clínicos y biológicos de los que se dispone en la actualidad no son capaces de discriminar el 15-20% de pacientes con enfermedad avanzada que progresarán durante el tratamiento de primera línea o que recaerán tempranamente después de una primera RC (menos de 12 meses), es necesaria la puesta a punto de marcadores moleculares, generados probablemente a partir de técnicas de expresión génica, para poder identificar aquellos pacientes de especial mal pronóstico que requerirán la administración de tratamientos de intensidad elevada y separarlos de la gran mayoría de pacientes que deben ser tratados con tratamientos de intensidad estándar.

TABLA 28.5

Factores de riesgo independientes dentro del Índice Pronóstico Internacional

Factor	Riesgo relativo	p
Albúmina sérica < 4 g/dL	1,49	< 0,001
Hemoglobina < 10,5 g/dL	1,35	0,006
Sexo masculino	1,35	0,001
Estadio IV	1,26	0,011
Edad ≥ 45 años	1,39	0,001
Leucocitos ≥ 15.000/mL	1,41	0,001
Linfocitos < 600/mL o < 8% de la fórmula leucocitaria	1,38	0,002

TRATAMIENTO DEL LINFOMA DE HODGKIN

En la actualidad, más del 75% de los pacientes con LH se curan después de recibir tratamiento con RT y/o QT, ya sea como tratamiento de primera línea o como tratamiento de rescate.

Tratamiento del linfoma de Hodgkin (estadios I-II con pronóstico favorable)

Las estrategias terapéuticas en el LH en estadios iniciales se han modificado en los últimos años. Hasta hace relativamente poco, la RT en campo extenso ha sido considerada el tratamiento de elección. Sin embargo, debido a la elevada tasa de recaídas y a los efectos secundarios a largo plazo, la RT en campo extenso (RT sobre zonas inicialmente afectadas y áreas linfoides adyacentes) está siendo abandonada por la mayor parte de los grupos. En su lugar, el tratamiento actual de los pacientes con estadios iniciales favorables se basa en la combinación de QT de corta duración para el control de las lesiones ocultas, combinada con RT sobre el campo afectado (restringida sólo a áreas linfoides inicialmente afectadas). La mayor parte de los grupos administran cuatro ciclos del esquema ABVD, seguidos de RT sobre el campo afectado (30-35 Gy)[40].

La mayoría de los estudios recientemente completados o en curso se han desarrollado en un intento de reducir las complicaciones a largo plazo del tratamiento, sin incrementar la mortalidad secundaria al linfoma. Algunos de estos estudios incluyen la evaluación de la reducción de la dosis de irradiación o del campo a irradiar, la evaluación del régimen quimioterápico óptimo, del número óptimo de ciclos de QT a administrar y de la dosis total y volumen de RT a administrar cuando se combina con la QT[40-53] (tabla 28.6).

En resumen, la RT sola ya no está considerada como tratamiento de elección en los pacientes con LH en estadios favorables sin factores de mal pronóstico. El tratamiento estándar se basa en la combinación de dos a cuatro ciclos de QT tipo

TABLA 28.6

Estudios prospectivos aleatorizados en el LH en estadios iniciales y pronóstico favorable

Estudio	Regímenes terapéuticos	Nº. pacientes	Resultados	Ref.
GHSG HD7	A. RTCE 30 *Gy* (CA 40 *Gy*) B. ABVD + RTCE 30 *Gy* (CA 40 *Gy*)	305 312	SLFT: 75% *vs.* 91%, $p < 0{,}0001$ SG (5 años): 94% *vs.* 94%, p = ns	40
SWOG #9133	A. 3 (doxorubicina + vinblastina) + ILST (B) (36-40 *Gy*) B. ILST (B) (36-40 *Gy*)	165 161	SLFT: 94% *vs.* 81%, $p < 0{,}001$ SG (3 años): 96% *vs.* 96%, p = ns	41
EORTC/GELA H7F	A. 6ABVP + RTCA (36 *Gy*) B. INST (B)	168 165	SLR: 90% *vs.* 81%, $p = 0{,}002$ SG (5 años): 96% *vs.* 95%, p = ns	42
EORTC/GELA H8F	A. 3MOPP/ABV + RTCA (36 *Gy*) B. INST (B)	271 272	SLR: 99% *vs.* 80%, $p < 0{,}0001$ SG (4 años): 99% *vs.* 95%, $p < 0{,}0186$	43
Stanford V (estadios favorables I-IIA)	Stanford V (× 8 semanas) + RTCA modificada (30 *Gy*)	65	Mediana de seguimiento: 16 m SLP (3 años): 94,6% SG: 96,6%	44
EORTC H9F	A. 6EBVP + RTCA (36 *Gy*) B. 6EBVP + RTCA (20 *Gy*) C. 6EBVP (no RT)	158 147 129	SLFT global: 79% Rama C cerrada por elevada tasa de recaídas	–
GHSG HD10	A. 2ABVD + RTCA (30 *Gy*) B. 2ABVD + RTCA (20 *Gy*) C. 4ABVD + RTCA (30 *Gy*) D. 4ABVD + RTCA (20 *Gy*)	204 210 218 215	SLFT global (24 m): 97% SG total (24 m): 99%	45
Milán 1990-1997	A. 4ABVD + ILST B. 4ABVD + RTCA	65 68	SLP: 97% *vs.* 94% SG (5 años): 93% *vs.* 94%	46
GHSG HD13	A. 2ABVD + RTCA (30 *Gy*) B. 2SBV + RTCA (30 *Gy*) C. 2AVD + RTCA (30 *Gy*) D. 2AV + RTCA (30 *Gy*)	Iniciado en enero/2003	Abierto	–

RT: radioterapia; RTCE: radioterapia en campo extenso; RTCA: radioterapia en campo afectado; ILST: irradiación linfoide subtotal; B: bazo; INST: irradiación nodal subtotal; SLFT: supervivencia libre de fracaso terapéutico; SG: supervivencia global; SLR: supervivencia libre de recaída; SLP: supervivencia libre de progresión.

ABVD y RT en el campo afectado (30-35 Gy), y en la actualidad, se está valorando la posibilidad de omitir la RT concomitante y administrar QT en este subgrupo de pacientes.

Tratamiento del linfoma de Hodgkin (estadios I-II con pronóstico desfavorable)

Se acepta de manera generalizada que los pacientes con LH en estadios iniciales, pero con factores de riesgo, deben ser tratados con tratamiento combinado con QT y RT. Sin embargo, el valor pronóstico de un solo factor de riesgo, el esquema de QT óptimo, el número de ciclos a administrar, así como la dosis total y el campo de irradiación, son aún objeto de debate.

A diferencia de lo que sucedía con los pacientes en estadios iniciales y sin factores de riesgo, la utilización de regímenes quimioterápicos menos intensos (el EBVP: epirubicina, bleomicina, vinblastina y prednisona) no ha demostrado ser tan efectiva como la administración de ABVD o las combinaciones de tratamiento que contienen ABVD. Por ello, el ABVD se ha transformado en el régimen estándar para el tratamiento de estos pacientes. Sin embargo, el 5% de ellos progresan durante el tratamiento, y el 15% de los mismos recaen de manera temprana, algunos de los cuales son resistentes a los esquemas quimioterápicos de rescate. Esto ha hecho que se estén evaluando nuevos regímenes quimioterápicos más intensivos (BEACOPP, Stanford V) en combinación con RT sobre el campo afectado (20-30 Gy) para el tratamiento de estos pacientes. En la actualidad, existen tres protocolos prospectivos aleatorizados que comparan ABVD con regímenes más intensivos: el protocolo H9U de la EORTC y el HD11 del GHSG[52] comparan cuatro ciclos de ABVD con cuatro ciclos de BEACOPP basal, y la RT queda limitada a la administración de 20-30 Gy sobre el campo afectado. Finalmente, el protocolo 2496 del ECOG compara seis ciclos de ABVD con 12 semanas de Stanford V, seguido de RT. Sin embargo y hasta el momento, ninguno de ellos ha conseguido demostrar que el tratamiento con regímenes más intensivos de este subgrupo de pacientes mejore de manera significativa los resultados en términos de supervivencia a largo plazo.

La pregunta de si la extensión de la RT administrada puede reducirse a las zonas inicialmente afectadas después de la administración de QT adecuada sin empeorar los resultados terapéuticos finales, fue suficientemente contestada por el grupo de Milán[47], que sin embargo no distinguía entre pacientes con o sin factores de mal pronóstico y el protocolo HD8 del GHSG[51] (tabla 28.7). Este protocolo comparaba la administración de RT en campo extenso en dosis de 30 Gy y 10 Gy sobre áreas voluminosas frente a RT sobre campo afecto (30 Gy) y 10 Gy sobre áreas inicialmente voluminosas tras la administración de dos ciclos del esquema combinado COPP/ABVD. Se aleatorizaron 1.204 pacientes entre 1993 y 1998. La supervivencia global (SG) de todo el grupo de pacientes fue del 91%, y la supervivencia libre de fracaso terapéutico (SLFT), del 83%. No existieron diferencias significativas entre ambos brazos terapéuticos en términos de SG, SLFT, tasa de RC, recaídas, muertes y segundas neoplasias (SN). Sin embargo, los efectos secundarios agudos (leucopenia y trombocitopenia, náuseas y vómitos, toxicidad faríngea y gastrointestinal) fueron significativamente superiores en pacientes tratados con RT en campo extenso. Este estudio y el protocolo de Milán han llevado a considerar la RT en el campo afectado junto con la administración de cuatro ciclos de QT: el estándar terapéutico de los pacientes en estadios iniciales con factores de mal pronóstico.

En resumen, el pronóstico de los pacientes con LH en estadios iniciales I-II y factores de mal pronóstico ha mejorado espectacularmente en los últimos años con la introducción del tratamiento combinado con QT y RT. El ABVD está considerado el tratamiento quimioterápico estándar en el momento actual, a pesar de que existe un 5% de los pacientes que progresa durante el tratamiento y un 15% que presenta recaídas precoces. Finalmente, estudios recientes también han demostrado que la administración de RT sobre el campo afectado tras un número adecuado de ciclos de QT es suficiente, menos tóxica e igualmente efectiva que la RT sobre campo extenso[49-53]. La posibilidad de obviar la RT complementaria con la administración de seis ciclos de QT es un aspecto que está en estudio en el momento actual.

Tratamiento del linfoma de Hodgkin en estadios avanzados (estadios III-IV)

El LH en estadios avanzados era considerado una neoplasia fatal a finales de la década de 1960, antes del desarrollo de los esquemas de poliquimioterapia de los que se dispone en la actualidad (tabla 28.8). Con el primer esquema desarrollado, el esquema MOPP (mostaza nitrogenada, vincristina, procarbacina y prednisona), aproximadamente el 80% de los pacientes en estadios avanzados tratados conseguían una RC, y el 55% de ellos estaban vivos y libres de enfermedad a los 10 años[54]. En un intento de evitar las resistencias al MOPP y reducir los efectos secundarios agudos relacionados con este régimen, los investigadores del grupo de Milán[55] desarrollaron el esquema ABVD (adriamicina, bleomicina, vinblastina, dacarbacina). Aproximadamente, el 46% de los pacientes resistentes al MOPP conseguía una RC con el ABVD. Teniendo en cuenta la capacidad de rescate del ABVD para pacientes resistentes al MOPP y viceversa, se desarrolló el esquema alternante MOPP/ABVD en un intento de incorporar dos regímenes quimioterápicos sin resistencia cruzada en el mismo esquema terapéutico. Los hallazgos iniciales de este estudio del grupo italiano demostraron la superioridad del régimen alternante frente al MOPP convencional para pacientes con LH en estadio IV[56].

Para intentar confirmar los resultados del grupo de Milán, en 1992 el Cancer and Leukemia Group B (CALGB) desarrolló un estudio aleatorizado fase III (n = 361 pacientes) en el que comparaba de seis a ocho ciclos de MOPP con seis a ocho ciclos de ABVD y 12 ciclos de MOPP alternando con ABVD[57]. Podían ser incluidos pacientes con LH en estadios III-IV previamente no tratados o que habían recaído tras la administración de RT. ABVD y MOPP/ABVD consiguieron tasas de RC (81 y 82%, respectivamente) y supervivencia libre de eventos (SLE) muy similares (64% para ambos esquemas a los 3 años). Además, ambos regímenes demostraron ser significativamente superiores al MOPP (69% de RC y SLE del 48% a los 3 años). No hubo diferencias en la SG. Este estudio estableció que el tratamiento estándar para pacientes con LH en estadios avanzados debía contener adriamicina.

En 1985, el grupo de Vancouver[58] reportó los resultados del esquema híbrido MOPP/ABV en el que MOPP era administrado en los días 1 a 7 y el ABV en el día 8. Se omitía la dacarbacina, y la dosis de doxorubicina aumentaba de 25 a

TABLA 28.7

Estudios prospectivos aleatorizados en el LH en estadios iniciales y pronóstico desfavorable

Estudio	Regímenes terapéuticos	N.º pacientes	Resultados	Ref.
EORTC H6U	A. 3MOPP + Mantle + 3MOPP B. 3ABVD + Mantle + 3ABVD	165 151	SLFT: 77% *vs.* 88%, $p < 0,0001$ SG (10 años): 87% *vs.* 87%, p = ns	49
EORTC H7U	A. 6EBVP + RTCA (36 *Gy*) B. 6MOPP/ABV + RTCA	160 156	SLE: 68% *vs.* 90%, $p < 0,0001$ SG (6 años): 82% *vs.* 89%, $p = 0,18$	50
SWOG/ECOG #2496	A. 6ABVD + RTCA (36 *Gy*) B. Stanford V (12 semanas) + RTCA	Abierto	Abierto	–
GHSG HD8	A. 4COPP/ABVD + RTCE (30 *Gy*) + masa voluminosa (10 *Gy*) B. 4COPP/ABVD + RTCA (30 *Gy*) + masa voluminosa (10 *Gy*)	532 532	SLFT: 86% *vs.* 84%, p = ns SG (5 años): 91% *vs.* 92%, p = ns	51
GHSG HD11	A. 4ABVD + RTCA (30 *Gy*) B. 4ABVD + RTCA (20 *Gy*) C. 4BEACOPP + RTCA (30 *Gy*) D. 4BEACOPP + RTCA (20 *Gy*)	264 257 262 268	SLFT (24 meses): 90% SG (24 meses): 97% Brazos A y B: SLFT: 89%, SG: 98% Brazos C y D: SLFT91%, SG: 97% Después de 20 *Gy*: SLFT: 93%, SG: 98% Después de 20 *Gy*: SLFT: 91%, SG: 99%	52
GHSG HD14	A. 4ABVD + RTCA (30 *Gy*) B. 2BEACOPP escalado + 2ABVD + RTCA (30 *Gy*)	Abierto	Abierto	–
EORTC/GELA H8U	A. 6MOPP/ABV + RTCA (36 *Gy*) B. 4MOPP/ABV + RTCA (36 *Gy*) C. 4MOPP/ABV + ILST	335 333 337	SLR: 94% *vs.* 95% *vs.* 96%, p = ns SG (4 años): 90% *vs.* 95% *vs.* 93%, p = ns	53
EORTC H9U	A. 6ABVD + RTCA (30 *Gy*) B. 4ABVD + RTCA C. 4BEACOPP + RTCA	276 277 255	Abierto. SLP global: 90%	–

ILST: irradiación linfoide subtotal; RT: radioterapia; RTCA: radioterapia en campo afecto; SG: supervivencia global; SLE: supervivencia libre de eventos; SLFT: supervivencia libre de fracaso terapéutico; SLP: supervivencia libre de progresión; SLR: supervivencia libre de recaída.

35 mg/m^2 i.v. Un 88% de los pacientes conseguía RC, y la SG actuarial a los 4 años era del 90%. En este mismo momento, se iniciaron otros estudios prospectivos aleatorizados que comparaban el esquema híbrido MOPP/ABV con los protocolos secuenciales (MOPP) (ABVD) y alternantes (MOPP/ABVD). Los resultados de estos estudios demostraban que el esquema híbrido MOPP/ABV era tan efectivo como el esquema alternante MOPP/ABVD, y más efectivo que el tratamiento secuencial[59,60].

El trabajo que más recientemente analiza el papel de los diferentes esquemas terapéuticos en el tratamiento del LH en estadios avanzados es el publicado por Duggan[61]. La relación riesgo-beneficio del tratamiento del LH debe ser evaluada a largo plazo, porque pueden aparecer efectos secundarios relacionados con el mismo muchos años después de su finalización. El esquema MOPP se asocia con el desarrollo de síndromes mielodisplásicos (SMD) y leucemias agudas (LA) secundarias, esterilidad y neuropatía periférica[58,62]. La doxorubicina y la bleomicina, componentes del ABVD, pueden causar cardiomiopatía y fibrosis pulmonar[58,62]. Todos estos efectos secundarios pueden tener su importancia con el esquema MOPP/ABV híbrido. Puesto que el MOPP/ABV era un régimen efectivo y utilizado de manera generalizada a pesar de la ausencia de estudios controlados comparándolo con esquemas menos tóxicos, el estudio de Duggan et al se diseñó para comparar tanto los posibles beneficios terapéuticos como la toxicidad del esquema híbrido frente al ABVD solo. Tras la aleatorización de 856 pacientes en ambos brazos, la tasa de RC (76 *vs.* 80%, $p = 0,16$), la SLE a los 5 años (63 *vs.* 61%, $p = 0,42$) y la SG a los 5 años (82 *vs.* 81%, $p = 0,82$) fueron similares para ABVD y MOPP/ABV, respectivamente. Sin embargo, las toxicidades hematológica y pulmonar significativas clínicamente fueron más frecuentes con el esquema híbrido MOPP/ABV ($p = 0,060$ y 0,001, respectivamente). No hubo diferencias en relación con la toxicidad cardíaca; sin embargo, la mortalidad relacionada directamente con el tratamiento fue superior en la rama de MOPP/ABVD (n = 15) con respecto a la rama de ABVD (n = 9), aunque sin alcanzar dife-

TABLA 28.8

Regímenes de QT más frecuentemente utilizados como tratamiento de primera línea en el LH

Esquema	Fármaco, dosis (días de administración)[1]
MOPP[2]	Mostaza nitrogenada 6 mg/m^2 i.v. (1 y 8), VCR 1,4 mg/m^2 i.v. (1 y 8) (máx.: 2 mg), PBC 100 mg/m^2 v.o. (1-14), PDN 40 mg/m^2 v.o. (1-14)
ABVD[3]	ADR 25 mg/m^2 i.v., BLE 10 U/m^2 i.v., VBL 6 mg/m^2 i.v., dacarbacina 375 mg/m^2 i.v. (días 1 y 15)
MOPP/ABVD[4]	Ciclos de MOPP y ABVD alternantes
MOPPABV[4]	Mostaza nitrogenada 6 mg/m^2 i.v. (1 y 8), VCR 1,4 mg/m^2 i.v. (1 y 8) (máx.: 2 mg), PBC 100 mg/m^2 v.o. (1-14), PDN 40 mg/m^2 v.o. (1-14), ADR 35 mg/m^2 i.v. (8), BLE 10 U/m^2 i.v. (8), VBL 6 mg/m^2 i.v. (8)
BEACOPP escalado[5,6]	BLE 10 mg/m^2 i.v. (8), VP16 200 [100] mg/m^2 i.v. (1-3), ADR 35 [25] mg/m^2 i.v. (1), Cy 1.250 [650] mg/m^2 i.v. (1), VCR 1,4 mg/m^2 i.v. (8) (máx.: 2 mg), PCB 100 mg/m^2 v.o. (1-7), PDN 40 mg/m^2 v.o. (1-14) ± G-CSF
Stanford V	Mecloretamina 6 mg/m^2 i.v. (semanas 1, 5, 9), ADR 25 mg/m^2 i.v. (semanas 1, 3, 5, 9, 11), VBL 6 mg/m^2 i.v. (semanas 1, 3, 5, 9, 11), VCR 1,4 mg/m^2 i.v. (máx.: 2 mg) (semanas 2,4,6,8,10, 12), BLE 5 mg/m^2 i.v. (semanas 2, 4, 6, 8, 10, 12), VP16 60 × 2 mg/m^2 i.v. (semanas 3, 7, 11), PRD 40 mg/m^2 v.o. (1-10) ± G-CSF

[1]Un ciclo cada 28 días.

[2]En algunos centros se sustituye la mostaza nitrogenada por la Cy.

[3]En la actualidad se considera el tratamiento de elección de primera línea en la EH.

[4]No han demostrado superioridad frente al ABVD solo.

[5]Entre corchetes, dosis del BEACOPP basal.

[6]Se administra cada 28 días.

BLE: bleomicina; PCB: procarbacina; VBL: vinblastina.

rencias estadísticamente significativas, y la incidencia de SMD y LA secundarias también fue significativamente superior en los pacientes tratados con el esquema híbrido (n = 11) en relación con los tratados con el ABVD (n = 2) (p = 0,011), a pesar de que estos dos últimos pacientes fueron tratados posteriormente con MOPP y RT antes de desarrollar la LA.

Todos estos estudios presentados anteriormente indican que los resultados del ABVD son similares a los de los esquemas híbridos o alternantes, pero llevan asociada una significativa menor toxicidad a corto y largo plazo. Hasta el momento, el ABVD se considera el tratamiento estándar de los pacientes con LH que debutan en estadios avanzados, y éste debe ser el régimen frente al que se deberían comparar las nuevas propuestas terapéuticas con regímenes más intensificados.

Regímenes con intensificación de dosis

A principios de la década de 1990, se iniciaron diferentes estudios clínicos diseñados con el objetivo de analizar los resultados de la intensificación de dosis en pacientes con LH en estadios avanzados. La mayor parte de estos estadios introducían la administracion de etopósido como agente quimioterápico novedoso, y utilizaban dosis más elevadas que las presentes en el ABVD.

El esquema de poliquimioterapia Stanford V de 12 semanas de duración, solo o combinado con RT sobre áreas de enfermedad voluminosa, fue desarrollado en 1988 con el objetivo de mejorar e incrementar la tasa de RC y minimizar los efectos secundarios a corto y largo plazo[63]. Las características más destacadas de este esquema terapéutico incluyen un período de tratamiento corto, aumento de dosis o mantenimiento de la misma en determinados fármacos, reducción en las dosis acumulativas de bleomicina y adriamicina con respecto al ABVD estándar o a los esquemas híbridos, y marcada reducción en la mostaza nitrogenada, con reducción de la dosis total de procarbacina. Con estas modificaciones, se anticipaba una disminución o abolición de los efectos secundarios cardíacos y pulmonares, de la esterilidad y del desarrollo de neoplasias secundarias (NS), fundamentalmente LA. La RT complementaria en dosis de 36 Gy quedaba restringida a áreas voluminosas o a enfermedad esplénica macroscópica, evitando la irradiación de axilas y región cervical alta, a menos que existiera enfermedad voluminosa a ese nivel. La actualización de los resultados clínicos de este protocolo[64] con un seguimiento medio de 5,4 años, incluyendo un total de 142 pacientes con LH en estadios III-IV o con enfermedad mediastínica voluminosa demuestra una SLP a los 5 años del 89%, con una SG del 90%. Ningún paciente progresó bajo tratamiento, y la mortalidad relacionada con el procedimiento fue del 0%. La SLP fue significativamente superior en aquellos pacientes con 0-2 factores de mal pronóstico según el índice de Hasenclever y Diehl en relación con los que presentaban un *score* de 3 o superior (94 *vs.* 75%, p = 0,0001). No se objetivaron neoplasias secundarias y hubo 42 embarazos después de la finalización del tratamiento.

A pesar de que los resultados publicados por el grupo de Stanford en relación con el esquema desarrollado por ellos mismos son prometedores en términos de supervivencia e indicativos de escasos efectos secundarios a corto y largo plazo, sólo existe un estudio aleatorizado que ha intentado validarlos externamente. El Intergrupo Italiano de Linfomas inició en 1996 un estudio prospectivo, multicéntrico, dirigido a valorar la eficacia del Stanford V y de otro esquema también semiintensivo como el MEC (MOPP/EBV/CAD) frente al estándar ABVD[65]. Se incluyeron 355 pacientes con LH avanzado (estadios III y IV y estadio II con enfermedad voluminosa) que fueron aleatorizados a recibir Stanford V (n = 117), MEC (n = 123) y ABVD (n = 115), que sirvió de brazo con-

trol. Se planificó la administración de RT para masas residuales o zonas de enfermedad voluminosa. La tasa de RC fue del 93, 89 y 74% para los pacientes tratados con MEC, ABVD y Stanford V, respectivamente, con diferencias estadísticamente significativas entre los tres brazos (p = 0,013). La tasa de recaídas fue significativamente superior en el grupo de pacientes que recibió el Stanford V (16, 6 y 4% para Stanford V, ABVD y MEC, respectivamente, p = 0,042). De igual modo, la SLP a los 3 años también fue superior para los pacientes tratados con MEC y ABVD en relación con los tratados con Stanford V (87, 81 y 53%, respectivamente, $p < 0,0001$) aunque la SG a los 3 años fue del 93% en los tres grupos de pacientes. La toxicidad fue similar en los diferentes grupos de pacientes. A pesar de que estos resultados son preliminares, los autores concluyen que el esquema MEC es superior tanto a ABVD como también al Stanford V para los pacientes con LH en estadios avanzados. Estos datos hacen necesario disponer de más información de otros estudios prospectivos aleatorizados para clarificar el verdadero papel del Stanford V frente a otros esquemas convencionales como el ABVD.

De manera similar, el grupo de Manchester desarrolló un esquema abreviado, de 11 semanas de duración denominado VAPEC-B (vincristina, doxorubicina, prednisolona, etopósido, ciclofosfamida y bleomicina) y lo comparó con el protocolo ChlVPP/EVA (clorambucilo, vinblastina, procarbacina, prednisolona, etopósido, vincristina y doxorrubicina) con RT sobre zonas previamente voluminosas o con enfermedad residual (n = 282)[66]. Este estudio fue cerrado de manera prematura debido a que la tasa de progresiones después del esquema VAPEC-B era tres veces superior a la del brazo experimental. Tras una media de seguimiento de 4,9 años, la SLP, la SLE y la SG fueron significativamente mejores con el esquema intensificado ChlVPP/EVA que con VAPEC-B.

El GHSG desarrolló un modelo matemático de crecimiento tumoral y efectos de la QT para intentar cuantificar esta dependencia. El modelo permitía estimar la distribución de los tiempos de latencia (tiempo que necesita el tumor para crecer desde una célula hasta el desarrollo de manifestaciones clínicas) y la distribución de la quimiosensibilidad en una población de pacientes basándose en datos clínicos de control tumoral y QT administrada. Este modelo matemático se utilizó para simular el efecto de diferentes estrategias de intensificación y escalada de dosis. Basándose en estas simulaciones, se llegó a la conclusión de que la reducción de los intervalos entre ciclos de cuatro a tres semanas sólo supondría pequeños beneficios en términos de control tumoral (aproximadamente, el 3% de tasa de control tumoral a los 5 años); en cambio, un incremento del 30% en la dosis total de QT administrada en relación al tratamiento estándar podía suponer un beneficio del 10% en el control tumoral a los 10 años[67]. Ésta fue la base teórica para el desarrollo del protocolo HD9 del GHSG[68,69]. El objetivo del HD9 fue evaluar si un incremento moderado de dosis y/o una aceleración en la poli-QT estándar podía mejorar los resultados a largo plazo en pacientes con LH en estadios avanzados. Se compararon dos variantes de un nuevo esquema terapéutico compuesto por bleomicina, etopósido, doxorrubicina, ciclofosfamida, vincristina, procarbacina y prednisona (BEACOPP en su versión basal y en su versión escalada) con el esquema habitual utilizado en estos pacientes por el GHSG: el COPP/ABVD (ciclofosfamida, vincristina, procarbacina y prednisona/doxorrubicina, bleomicina, vinblastina y dacarbacina)[70]. Desde febrero de 1993 a marzo de 1998, 1.201 pacientes elegibles de 15 a 65 años de edad y diagnosticados de EH en estadios desfavorables IIB, III y IV fueron aleatorizados para recibir 8 ciclos del esquema alternante COPP/ABVD, el esquema BEACOPP en dosificación basal (× 8 ciclos) o en su versión escalada (× 8 ciclos). En todos los casos, se administró RT complementaria si estaba indicado desde el punto de vista clínico. La inclusión de pacientes en el grupo de COPP/ABVD se detuvo en septiembre de 1996 tras el primer análisis interino, debido a los resultados significativamente inferiores conseguidos con este esquema terapéutico. A partir de aquí, se continuó con el reclutamiento de pacientes para los dos grupos restantes hasta conseguir un total de 500 pacientes en cada uno de los grupos. El análisis final fue realizado en agosto de 2001. De los 1.298 pacientes incluidos, 81 fueron encontrados posteriormente no elegibles debido a diagnóstico erróneo (n = 46), enfermedades concomitantes (n = 8), estadiaje incorrecto (n = 10), otros criterios de inclusión incorrectos (n = 16) y falta de consentimiento informado (n = 1). Doscientos sesenta pacientes fueron aleatorizados al brazo de COPP/ABVD, 469 en el brazo del BEACOPP estándar, y 466, en el brazo del BEACOPP escalado. No hubo diferencias significativas entre los tres grupos de pacientes. Los resultados en términos de control de la enfermedad fueron significativamente superiores para los pacientes que recibieron el BEACOPP en su versión escalada: SLP a los 5 años del 69% para el grupo de COPP/ABVD, 76% para el BEACOPP basal y 87% para el grupo del BEACOPP escalado (p = 0,04 para la comparación entre COPP/ABVD con el grupo BEACOPP y $p < 0,001$ para la comparación entre el grupo BEACOPP escalado con el grupo COPP/ABVD y el BEACOPP basal) y SG a los 5 años del 83, 88 y 91%, respectivamente (p = ns para la comparación entre COPP/ABVD y el BEACOPP basal, p = 0,06 entre BEACOPP basal y BEACOPP escalado, y p = 0,002 entre COPP/ABVD y BEACOPP escalado). La tasa de recaídas también fue significativamente inferior en el subgrupo de pacientes tratados con el BEACOPP escalado en comparación con los pacientes tratados con el brazo control COPP/ABVD o los tratados con la versión basal del BEACOPP. Todos los pacientes con masas voluminosas iniciales o con enfermedad residual tras ocho ciclos de tratamiento fueron candidatos a recibir RT complementaria: 30 Gy en el caso de las masas voluminosas iniciales y 40 Gy para aquellas zonas de enfermedad visible. El 71% de los pacientes tratados con los esquemas BEACOPP recibieron RT complementaria, mientras que esta proporción fue sólo del 64% en los pacientes tratados con COPP/ABVD. Estas diferentes proporciones fueron debidas a la existencia de una mayor proporción de pacientes con masas voluminosas iniciales en el grupo de los tratados con BEACOPP y probablemente, a que la sensiblemente más corta duración del tratamiento con BEACOPP no permitía una reducción superior de la masa tumoral.

Estos resultados han hecho que el GHSG considere el BEACOPP como el tratamiento estándar de los pacientes con EH en estadios avanzados. Recientemente, se ha desarrollado una variante del mismo en la que se administran los mismos fármacos en iguales dosis pero a intervalos de 14 días[71]. Los resultados de este estudio indican que la administración del esquema BEACOPP a intervalos de 14 días con G-CSF concomitante es posible y efectiva desde el punto de vista terapéutico, con una toxicidad aguda moderada. Basándose en

todos estos estudios, el GHSG ha iniciado el protocolo HD12 en el que compara el BEACOPP escalado (× 8 ciclos) con el BEACOPP escalado (× 4 ciclos) + BEACOPP basal (× 4 ciclos). Los resultados de un estudio interino realizado recientemente indican que el BEACOPP escalado ofrece mejores resultados en términos de supervivencia, y no parece más tóxico, por lo que este esquema terapéutico constituye la base del siguiente estudio propuesto por este grupo en el que los pacientes se aleatorizan entre BEACOPP escalado (× 8 ciclos), BEACOPP escalado (× 6 ciclos) y BEACOPP basal (× 8 ciclos) administrado a intervalos de dos semanas (estudio HD15).

Cuando se aplica el IPS a los pacientes con LH en estadios avanzados, se puede demostrar la superioridad del esquema BEACOPP escalado sobre el COPP/ABVD en todos los grupos de riesgo. Este efecto beneficioso es más pronunciado en los pacientes con más factores de riesgo (IPS 4-7), con una diferencia significativa en la SG del 15% (82 frente al 62%). Basándose en estos resultados, el GHSG ha adoptado el esquema BEACOPP para todos los pacientes en estadios avanzados.

A pesar de que estos resultados extremadamente prometedores del esquema BEACOPP en términos de tasa de respuestas y supervivencia posterior han hecho que la comunidad científica, eventualmente, considere este protocolo como el tratamiento estándar de los pacientes con LH en estadios avanzados, es necesario tener en cuenta dos aspectos importantes: en primer lugar, que la validación externa de un determinado protocolo no siempre ofrece los resultados que puede aportar el grupo original, como ha ocurrido hasta el momento con el Stanford V; y por otro lado, que los efectos secundarios tanto a corto como a largo plazo de este esquema terapéutico deben de ser aún evaluados detenidamente para determinar el beneficio final.

En primer lugar, la toxicidad hematológica es significativamente superior en el grupo de pacientes tratados con BEACOPP escalado en relación con los pacientes tratados con COPP/ABVD o el BEACOPP en su versión basal. En este primer grupo el desarrollo de leucopenia grado 3-4 fue prácticamente universal en cada uno de los ocho ciclos (98 *vs.* 73 *vs.* 71% en el BEACOPP escalado, basal y en el COPP/ABVD, respectivamente) mientras que la frecuencia de trombocitopenia (70 *vs.* 9 *vs.* 6%, con los tres esquemas terapéuticos, respectivamente) y anemia (66 *vs.* 17 *vs.* 5%, respectivamente), grados 3-4 fue aumentando progresivamente a partir de los cuatro últimos ciclos. Esto hace que la administración de factor estimulante de las colonias granulocíticas se incluya en todos aquellos pacientes que reciben el BEACOPP escalado, aunque no es imprescindible en los pacientes que reciben el COPP/ABVD o el BEACOPP basal, y que se plantee eventualmente la administración de eritropoyetina en los receptores del régimen escalado. Los procesos infecciosos grado 3-4 aparecieron en el 16% de los pacientes tratados con el BEACOPP basal, y en el 22% de los pacientes tratados con el escalado. Sin embargo, la incidencia de eventos infecciosos fatales fue similar en los tres grupos de pacientes (aproximadamente, el 2%). No existen datos publicados acerca de la incidencia de ingresos hospitalarios debido a procesos infecciosos intercurrentes, con la consiguiente utilización de recursos hospitalarios que encarecen todo el proceso terapéutico, ni tampoco de las necesidades transfusionales en los tres grupos de pacientes.

Otro aspecto que se debe considerar es la toxicidad a largo plazo del tratamiento administrado, que está básicamente representada por la incidencia de neoplasias secundarias en el grupo de pacientes a analizar. Se ha contabilizado un caso de LA secundaria, incluyendo SMD previos en el grupo de pacientes tratados con el COPP/ABVD, cuatro en el grupo del BEACOPP basal y nueve en el grupo del BEACOPP escalado. La tasa actuarial de LA secundarias a los 5 años del desarrollo de la EH fue del 0,4% en el grupo COPP/ABVD, 0,6% en el del BEACOPP basal y 2,5% en el del BEACOPP escalado ($p = 0,03$). Esta incidencia de LA en el grupo de pacientes tratados con el BEACOPP escalado parece alarmante, especialmente si se compara con la baja leucemogénesis del régimen ABVD. Sin embargo, esta complicación debe sopesarse con la tasa inferior de recaídas y progresiones tempranas y la elevada tasa de SLP y SG a los 5 años y con el hecho de que, en muchas ocasiones, las LA secundarias aparecen años más tarde como resultado de los tratamientos administrados en pacientes en recaída. Se han detectado tumores sólidos secundarios en tres, ocho y dos pacientes, respectivamente, y LNH secundarios en siete, cuatro y cinco pacientes pertenecientes a los tres grupos terapéuticos. Parece claro que la incidencia de SMD y LA secundarias es claramente superior tras la utilización del BEACOPP escalado, mientras que parece más frecuente el desarrollo de segundas neoplasias sólidas y LNH en la rama del COPP/ABVD (2,7 *vs.* 0,6%, $p = 0,050$). Puesto que el desarrollo de estos LNH es muy temprano, más bien podría tratarse de transformaciones de la neoplasia original que de neoplasias secundarias. Esta hipótesis está de acuerdo con la interpretación de que el BEACOPP es más eficaz no sólo frente a la EH sino frente a las células malignas transformadas que pueden dar lugar a un LNH.

Todas estas consideraciones que hacen referencia a efectos secundarios a corto y largo plazo, así como un incremento significativo en los costes económicos que suponen este nuevo tipo de tratamiento intensificado hacen que el esquema BEACOPP no esté aún considerado en la actualidad dentro de la comunidad científica como el tratamiento estándar del LH en estadios avanzados, por lo menos de manera generalizada. En este sentido, la EORTC ha iniciado recientemente un estudio prospectivo multicéntrico y aleatorizado que pretende comparar la SLP a los 3 años entre pacientes con LH diagnosticados en estadios avanzados, y con tres o más factores de mal pronóstico según el *score* de Hasenclever y Diehl tratados con ABVD (× 8 ciclos), considerado como el tratamiento estándar de este subgrupo de pacientes, y los tratados con BEACOPP (× 4 ciclos en su forma basal + × 4 ciclos en su forma escalada). Se permite la RT complementaria en los pacientes en los que exista enfermedad residual tras finalizar el tratamiento, y se plantean como objetivos secundarios la SG entre ambos grupos de pacientes, la incidencia de neoplasias secundarias, estudios de fertilidad después del tratamiento, y estudios de calidad de vida y de fármaco-economía. Es probable que los resultados definitivos de un estudio prospectivo de estas características permitan considerar de manera definitiva el esquema BEACOPP como el tratamiento estándar para este grupo de pacientes de elevado riesgo.

Papel de la radioterapia en el tratamiento de los linfomas de Hodgkin en estadios avanzados

Un aspecto importante en el tratamiento del LH en fases avanzadas es la eficacia añadida y la toxicidad tardía de la

RT complementaria después de un esquema de QT que contiene antraciclinas. En un estudio de la EORTC recientemente publicado[72], los pacientes que conseguían una RC después de seis a ocho ciclos de MOPP/ABV eran aleatorizados a recibir RT sobre el campo afectado o no más tratamiento. El análisis de 739 pacientes demostró que la administración de RT adicional no mejoró ni la SG ni la SLP de los pacientes que ya habían conseguido una RC con el esquema quimioterápico. Sorprendentemente, los pacientes en remisión parcial (RP) tras la QT y tratados con RT adicional, conseguían una SG a los 5 años del 85-90%, comparable a la de aquellos pacientes que conseguían ya una RC con QT sola.

De este estudio se puede concluir que sólo los pacientes en RP después de la QT se benefician de la administración de RT adicional sobre el campo afectado, mientras que los pacientes que consiguen ya una RC con QT no se benefician del efecto adicional de la RT. Este hecho tiene implicaciones importantes en el tratamiento de la enfermedad avanzada, puesto que muchas de las toxicidades a largo plazo pueden ser atribuidas a la RT. A pesar de que las técnicas y estrategias han cambiado de manera significativa en las últimas décadas, aún no se ha demostrado que la reducción de dosis, de campos de administración y una mejora en las fuentes de irradiación pueda reducir de manera significativa la toxicidad asociada a la combinación con QT. El riesgo de desarrollar una neoplasia secundaria después de RT en el LH es del 25% a los 25 años y aún no se ha determinado el límite en esta incidencia[73]. Más aún, existe una asociación dosis-riesgo en el desarrollo de neoplasias mamarias inducidas por la RT, y este riesgo se incrementa de manera lineal entre 4 y 40 Gy[74].

Manejo del linfoma de Hodgkin en recaída o refractario

Más del 80% de los pacientes con LH que reciben QT, RT o la combinación de ambas consiguen una RC, y la mayoría de ellos pueden considerarse curados de su enfermedad. Del 10 al 15% de los pacientes inicialmente tratados progresarán durante el tratamiento quimioterápico de primera línea y aproximadamente el 30% de los pacientes, fundamentalmente aquellos que debutan con enfermedad avanzada, recaerán tras una primera RC.

Cuando se trata de plantear el esquema terapéutico que se debe seguir en un paciente con LH en recaída hay que tener en cuenta el tratamiento de primera línea recibido; deben separarse las recaídas posteriores a RT de las recaídas después de tratamiento quimioterápico o combinado.

Recaídas tras radioterapia

La tasa de recaídas posteriores a RT oscila del 20 al 35%. La mayoría de los pacientes recaídos tras RT fueron tratados con el esquema MOPP, siendo la supervivencia a los 10 años del 57 al 70%, muy similar a la supervivencia de pacientes con LH en estadios avanzados y tratados inicialmente con MOPP[75,76]. Esto indica que el tratamiento previo con RT no supone un factor de mal pronóstico para alcanzar una nueva RC y tener una supervivencia prolongada tras un esquema de poliquimioterapia convencional.

Diferentes grupos cooperativos han analizado factores pronósticos a la recaída en estos pacientes (tabla 28.9). La Base de Datos Internacional para el LH demostró que las recaídas en pacientes mayores (> 40 años), las recaídas extranodales y los estadios avanzados a la recaída (estadio IV) tenían peor pronóstico. El grupo de Standford divide a los pacientes en tres grupos de riesgo en función del estadio a la recaída; los pacientes en estadio IA tienen una supervivencia libre de recaída a los 10 años del 88% frente al 58% para los pacientes en estadios intermedios a la recaída (IIA y IIIA), y al 34% para los pacientes con estadios avanzados (I-IIIB y IV).

TABLA 28.9

Factores con significación pronóstica independiente a la recaída para pacientes tratados con RT sola, tratamiento combinado o dosis altas de QT/RT

Recaída tras RT
Estadio a la recaída
Recaída extranodal
Histología
Edad
Recaída tras QT o tratamiento combinado
Duración de la 1.ª RC
Estadio a la recaída
Recaída extranodal
Número de áreas afectadas en la recaída
Síntomas B a la recaída
Histología
Estadio IV al diagnóstico
Edad
Estado clínico
Pretrasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos
Quimiosensibilidad
Respuesta al tratamiento inicial
Duración de la 1.ª RC
Respuesta a la QT de rescate convencional
Masa tumoral antes del trasplante
Estadio de la enfermedad
Enfermedad *bulky*
Enfermedad extranodal
Afectación pleural o múltiples nódulos pulmonares
Síntomas B
LDH elevada
Estado clínico

QT: quimioterapia; RC: remisión completa; RT: radioterapia.

Recaída tras quimioterapia sistémica

En la actualidad, los factores pronósticos que predicen recaída en pacientes con LH avanzada tratados con QT convencional quedan claramente reflejados en el estudio realizado por Hasenclever y Diehl[39]: edad superior a 45 años, estadio IV, sexo masculino, hipoalbuminemia sérica, niveles bajos de hemoglobina, leucocitosis y linfopenia. La presencia de los siete factores de mal pronóstico indica una SLE del 45% frente al 80% para los pacientes sin ningún factor de mal pronóstico al diagnóstico.

En términos generales, hay que considerar que las recaídas post-QT o tratamiento combinado deben de ser tratadas con QT. Los factores pronósticos para SLE y SG post-QT de rescate sistémica han sido analizados por diferentes grupos. El National Cancer Institute analizó sus resultados a largo plazo con el esquema MOPP; la edad inferior a 30 años y la dura-

ción de la primera RC > 12 meses mejoraban el pronóstico tras la recaída. El grupo de Milán analizó sus resultados con el esquema híbrido o con el alternante; la SLP tras la QT de rescate dependía fundamentalmente de la duración de la primera RC (< 12 meses *vs.* ≥ 12 meses) y de la quimiosensibilidad de la enfermedad al tratamiento de primera línea. La Cancer Control Agency de British Columbia demostró que la presencia de tres factores de mal pronóstico (primera RC de corta duración, sintomatología B a la recaída y estadio IV al diagnóstico) reducía la SLP al 17% a los 5 años, frente al 82% en pacientes sin ningún factor de mal pronóstico a la recaída. En el estudio retrospectivo del Hôpital Saint-Louis de París, la duración corta de la primera RC y el estadio III-IV a la recaída fueron factores de mal pronóstico para la supervivencia libre de segunda progresión en el estudio multivariado. En definitiva, el fracaso a la QT de primera línea puede ser utilizado para diferenciar a los pacientes en los que tienen una enfermedad primariamente refractaria (pacientes que nunca han conseguido una RC), recaídas tempranas (en los primeros 12 meses tras la obtención de una RC) y recaídas tardías (recaídas más allá de los 12 primeros meses de conseguir una RC). El pronóstico de estos pacientes varía de manera considerable; dentro de los pacientes primariamente refractarios tratados con QT de rescate convencional no existe virtualmente ningún superviviente más allá de los 8 años. Por el contrario, la SG a los 20 años de los pacientes en recaída temprana o tardía es del 11 y 22%, respectivamente[77].

Existen múltiples tratamientos de rescate (tabla 28.10). En general, la efectividad de la QT de rescate convencional como tratamiento único de un paciente en recaída es superior en los pacientes con primeras RC largas, de duración superior a los 12 meses, siendo la supervivencia a los 5 años de, aproximadamente, el 50%. En pacientes en recaída tras una primera RC corta (< 12 meses) o en pacientes con enfermedad primariamente refractaria, la QT de rescate convencional no está indicada como tratamiento único, puesto que los resultados a largo plazo son muy pobres.

Papel del trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos en el tratamiento del linfoma de Hodgkin en recaída o primariamente refractario

Las dosis altas de QT/RT seguidas de la infusión de progenitores hematopoyéticos autólogos, el trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TASPE) han sido consideradas en las últimas décadas como el tratamiento de elección para los pacientes con LH y enfermedad incurable con el tratamiento quimioterápico estándar y la RT. Dos son los tipos de pacientes que, en general, se consideran candidatos a trasplante: los pacientes primariamente refractarios a la QT convencional y los pacientes con LH en recaída tras una primera RC.

Papel del trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos en el linfoma de Hodgkin primariamente refractario

Dentro de la definición de pacientes con LH primariamente refractario se engloban los pacientes con enfermedad que nunca consiguen una RC, aquellos pacientes que progresan bajo tratamiento de primera línea y que una biopsia demuestra la presencia de enfermedad persistente, y aquellos pacientes que consiguen una primera RC pero que progresan

TABLA 28.10

Tratamientos quimioterápicos de rescate en el linfoma de Hodgkin

Esquema terapéutico	N.º de pacientes	Respuesta	Duración
VIM-D (etopósido, ifosfamida, mitoxantrona-dexametasona)	15	27%	2-14 meses (10 pacientes fueron autotrasplantados)
CAPE/PALE (ciclofosfamida, doxorrubicina, prednisolona, etopósido, CCNU)	25	52%	5 pacientes en RC (+42 a +80 meses)
ABDIC en infusión continua (doxorrubicina, bleomicina, dacarbacina, CCNU, prednisona)	19	53% (RP) 11% (RC)	12-27 meses (7 pacientes fueron autotrasplantados)
CAV (CCNU, melfalán, etopósido)	59	29% (RC)	Mediana de supervivencia, 18 meses
EVA (etopósido, vinblastina, doxorrubicina)	45	40% (RC)	Utilizado en recaídas tras MOPP, 11/18 en RCC
MINE (mitoguazona, ifosfamida, vinorelbina, etopósido)	100	34% (RC)	70% autotrasplantados; 40 pacientes, no evidencia de EH
Mini-BEAM (BCNU, etopósido, citarabina, melfalán)	44	32% (RC)	26 pacientes autotrasplantados
Dexa-BEAM (dexametasona, BCNU, etopósido, citarabina, melfalán)	26	69% (RC + RP)	ND
DHAP (citarabina, cisplatino, dexametasona)	53	85% (RC + RP)	ND

ND: no determinado; RC: remisión completa; RCC: remisión completa continuada; RP: remisión parcial.

antes de los 3 meses. Todos estos pacientes tienen mínimas o nulas posibilidades de curación con QT de rescate convencional con o sin irradiación[77-79], lo que ha planteado la utilización de altas dosis de QT/RT con rescate autólogo de progenitores hematopoyéticos. En la tabla 28.11 están resumidos los resultados con TASPE en LH primariamente refractario presentados por diferentes grupos[80-91]. En términos generales, la SLP a los 3-6 años está entre el 15 y el 50%, significativamente inferior a la presentada por pacientes con LH trasplantado tras una primera recaída, y la MRT está entre el 10 y el 15%, algo superior a la presentada por el anteriormente mencionado subgrupo de pacientes.

Se han analizado los factores pronósticos asociados con una mejor supervivencia post-TASPE en este grupo de pacientes. El estudio retrospectivo multicéntrico del North American Blood and Marrow Transplant Registry (ABMTR)[80] realizado en un grupo de 122 pacientes registrados en el ABMTR entre enero de 1989 y diciembre de 1995 demuestra una MRT del 10,2% a los 100 días del TASPE, una tasa de RC del 50% y una SLP y SG a los 3 años del 38 y 50%, respectivamente. La presencia de sintomatología B al diagnóstico y un mal estado general del paciente al trasplante fueron los

TABLA 28.11

Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos en el linfoma de Hodgkin primariamente refractario

Referencia	N.º de pacientes	Tratamiento de acondicionamiento	SLP (5 años) (%)
84	16	Programa secuencial con melfalán + ICT/RTCA	31
83	46	BEAM	33
85	30	CBV ± P	42
86	30	VP-16 + melfalán	34
88	290	BEAM (47%) CBV (23%) Otros (20%) ICT (3%)	30
89	29	CFM/VP-16/ICT CFM/VP-16/BCNU CFM/VP-16/CCNU	50
81	75	Variable	32
90	25	Variable	40
82	43	BEAM	20
87	62	Variable, CBV (n = 47)	15
80	122	Variable	38

BEAM, BCNU, VP-16, arabinósido de citosina y melfalán; CBV: ciclofosfamida, BCNV, VP-16 CFM: ciclofosfamida; ICT: irradiación corporal total; RTCA: radioterapia en el campo afectado; P: cisplatino;

únicos factores con impacto pronóstico significativo en los resultados a largo plazo. En el estudio retrospectivo realizado por el EBMT[81] se incluyeron un total de 175 pacientes con LH primariamente refractario, reportados por 69 centros europeos entre noviembre de 1979 y octubre de 1995. La SLP y la SG de la serie global a los 5 años fueron del 32 y 36%, respectivamente. En el análisis multivariado de factores pronósticos sólo se identificó el intervalo de tiempo entre el diagnóstico y el TASPE como factor de importancia pronóstica para la SG. Sorprendentemente, la quimiosensibilidad de la enfermedad antes del TASPE no tuvo ninguna influencia pronóstica.

Las dos últimas series publicadas que hacen referencia al impacto del TASPE en los pacientes con LH primariamente refractario son las del Grupo Español de Linfomas/Trasplante de Médula Ósea (GEL/TAMO)[87] y la del Memorial Sloan Kettering Cancer Research Center de Nueva York[91]. El primer estudio hace referencia al análisis retrospectivo y multicéntrico de un grupo de 62 pacientes tratados con un TASPE por enfermedad primariamente refractaria. La MRT al año fue del 14%, la tasa de respuestas después del TASPE del 52% y la SLP y SG a los 5 años, del 15 y 26%, respectivamente. La presencia de síntomas B al trasplante fue el único factor con importancia pronóstica sobre la SLP, mientras que la SG era significativamente más reducida en aquellos pacientes con sintomatología B al diagnóstico, tratados con QT tipo MOPP como tratamiento de primera línea, enfermedad voluminosa al TASPE y en aquellos que habían recibido más de dos líneas de tratamiento antes del TASPE (fig. 28.12). Moskoswitz et al[91] presentan los resultados de un análisis integrado de un grupo de 75 pacientes consecutivos con LH primariamente refractario y comprobado mediante biopsia, tratados con TASPE. En esta serie, y con una mediana de seguimiento de 10 años, la SLE, SLP y SG fueron del 45, 49 y 48%, respectivamente, y el único factor de importancia pronóstica significativa fue la quimiosensibilidad a la QT de rescate administrada pre-TASPE.

En resumen, el TASPE constituye una opción terapéutica para la minoría de pacientes con un LH primariamente refractario a la QT de primera línea convencional. Dentro de este concepto hay que tener en cuenta que las respuestas publicadas son bastante variables en función de la definición exacta de enfermedad primariamente refractaria y a la natu-

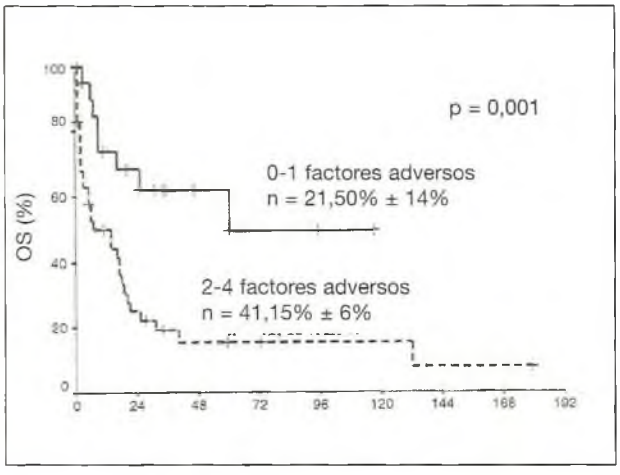


Figura 28.12. Factores pronóstico en los pacientes con LH primariamente refractarios tratados con trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos. Resultados del Grupo Español de Linfomas/Trasplante Autólogo de Médula Ósea.

raleza del estudio. Probablemente, los pacientes con enfermedad primariamente refractaria pero sensibles a la QT de rescate son los que se beneficien más claramente de esta aproximación terapéutica, mientras que los resultados son especialmente ominosos en aquel subgrupo de pacientes con nula respuesta a la QT de segunda línea.

Papel del trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos en el linfoma de Hodgkin en recaída

Existen muchos estudios fase II publicados en la literatura que parecen demostrar que la administración de QT/RT en altas dosis consigue mejores resultados en términos de SLP y SG que la QT de rescate convencional en pacientes con LH en recaída (tabla 28.12)[83,88,92-98]. En estos estudios, el TASPE ha demostrado conseguir una SLP del 30-65% en algunos grupos de pacientes con LH en recaída o refractarios. De todas estas series, se desprende que uno de los factores pronósticos más importantes en la valoración de los resultados del TASPE en pacientes en recaída es la duración de la primera RC. En 1992, el National Cancer Institute actualizó el seguimiento de los pacientes que habían recaído después de QT[77]. Los pacientes fueron divididos en aquellos en los que la RC había durado un mínimo de 12 meses y aquellos en los que había sido más corta. El mismo razonamiento se aplica para aquellos pacientes tratados con TASPE; la duración de la RC es el factor con mayor importancia pronóstica tanto en la SG como la SLP después del TASPE[99-101]. De igual modo, la respuesta a la QT de rescate administrada antes del TASPE es otro factor de importancia pronóstica capital. Así, aquellos pacientes trasplantados en recaída quimiosensible o segunda RC disfrutan de una SLP y SG significativamente superiores en comparación con aquellos pacientes que presentan enfermedad quimiorresistente antes del TASPE[82,101,102]. Otros factores con importancia pronóstica para valorar los resultados del TASPE en pacientes con LH en recaída son la masa tumoral a la recaída; los pacientes que recaen en estadios avanzados tienen peor pronóstico[76], al igual que los que presentan anemia significativa[76] y afectación extranodal en el momento de la recaída[99,100,103,104].

TABLA 28.12

Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos en el LH en recaída

Referencia	N.º de pacientes	Tratamiento de acondicionamiento	SLP (5 años) (%)
83	52	BEAM	47
92	43	CFM/VP-16/BCNU CFM/VP-16/ICT	~ 40
93	85	CBV	40
94	58	CBV±P	61
95	47	CFM/VP-16/BCNU CFM/VP-16/ICT	~ 50
96	42	CBV	44
88	139	BEAM (n = 81) CBV (n = 28) Otros (n = 19) ICT (n = 11)	45
97	60	CBV (n = 40) CFM/VP-16/ICT (n = 20)	50
98	216	CBV (50%) BEAM (20%) BEAC (n = 14) ICT + Otras QT (10%)	37

BEAM, BCNU, VP-16, arabinósido de citosina y melfalán; ICT: irradiación corporal total; CBV: ciclofosfamida, VP-16 y BCNU; P: cisplatino; CFM: ciclofosfamida; QT: quimioterapias.

Sin embargo, y a pesar de la gran cantidad de información existente en la literatura acerca de los resultados del procedimiento autólogo en el LH, hasta el momento sólo existen dos estudios prospectivos que analizan de forma aleatorizada los resultados del TASPE en relación a los de la QT convencional en este tipo de pacientes. En el estudio de Linch et al[92] se aleatorizaron 40 pacientes con LH en recaída a recibir el esquema mini-BEAM como QT de rescate o a recibir el esquema BEAM seguido de rescate autólogo. Las diferencias de SLE a los 3 años a favor de la rama de QT en altas dosis fueron tan elevadas (53 *vs.* 10%), que el estudio se cerró de manera prematura. Más recientemente, el grupo alemán junto con el EBMT ha publicado los resultados definitivos del protocolo HD-R1[105]. En este estudio, se aleatorizaron un total de 161 pacientes con LH quimiosensible a la administración de dos ciclos del esquema de rescate dexa-BEAM, a recibir dos ciclos más de dexa-BEAM o a recibir dosis altas de QT con el esquema intensivo BEAM seguidas de la infusión de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica. Tras una media de seguimiento de 39 meses (extremos, 3-78), la SLFT a los 3 años fue significativamente superior en los pacientes tratados con TASPE (55%) que en los pacientes tratados con QT de rescate convencional (34%). Estas diferencias estadísticamente significativas se mantuvieron tanto en aquellos pacientes que presentaron una recaída temprana como en los que presentaron una recaída tardía, a pesar de que en estos últimos las diferencias en la SG a favor de la población de pacientes autotrasplantada no alcanzó significación estadística. Los autores concluyen que el TASPE mejora la supervivencia a largo plazo de los pacientes con LH en recaída, independientemente de la duración de la primera RC.

En resumen, el TASPE es el tratamiento de elección para los pacientes que recaen tras QT sistémica. Las diferencias entre el TASPE y la QT de rescate convencional son más evidentes en los pacientes que recaen tempranamente. En los pacientes con recaídas tardías, las diferencias con respecto a la QT convencional siguen siendo significativas en términos de SLFT, pero no de SG. Los pacientes que presentan múltiples recaídas no parecen beneficiarse de la intensificación terapéutica: los resultados del TASPE no difieren significativamente de los de la QT de rescate convencional ni en términos de SG ni de SLFT. Es necesario buscar nuevas alternativas terapéuticas para esta población de pacientes.

Papel del trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos como tratamiento de consolidación en el linfoma de Hodgkin en primera remisión completa

El TASPE ha sido utilizado también por varios grupos como tratamiento de consolidación después del tratamiento qui-

mioterápico de primera línea. En la actualidad, ya han sido publicados dos estudios aleatorizados que analizan el posible beneficio del TASPE en este subgrupo de pacientes[106,107]. Ninguno de estos estudios consigue demostrar una ventaja del TASPE en esta situación y, teniendo en cuenta también el desarrollo de esquemas quimioterápicos más intensivos que pueden mejorar las curvas de supervivencia de pacientes con factores de mal pronóstico con respecto a esquemas convencionales como el ABVD, se ha abandonado la práctica del TASPE en este subgrupo de pacientes.

Papel del trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos en el tratamiento del linfoma de Hodgkin en recaída o primariamente refractario

Existe poca información acerca del papel del trasplante alogénico (alo-TPH) en el LH. De hecho, el número de alo-TPH realizados por centros pertenecientes al EBMT en los últimos 3-4 años ha estado siempre por debajo de 50, sin aumentar a lo largo del tiempo. El alo-TPH se ha asociado de manera clásica con una elevada MRT de hasta el 50% en algunas de las series publicadas debido a una elevada incidencia de enfermedad del injerto contra el huésped (EICH), y a eventos infecciosos fatales[108,109] y a una SG y SLP muy bajas, incluso en pacientes alotrasplantados con enfermedad quimiosensible. La experiencia del EBMT y del IBMTR indica que los pacientes con LH tratados con alo-TPH constituyen un grupo con gran número de factores de mal pronóstico: estado avanzado de la enfermedad, refractariedad de la enfermedad al tratamiento previo, elevado número de QT previas fallidas, incluyendo el TASPE, mal estado general al momento del alo-TPH y presencia en un elevado porcentaje de pacientes con infecciones activas en el momento del trasplante. En esta situación, la elevada MRT no permite evaluar adecuadamente el posible beneficio del efecto injerto *vs.* LH a pesar de que parece que la tasa de recaídas de los pacientes que desarrollan EICH postrasplante puede ser inferior a la de aquellos que no la desarrollan.

En un intento de reducir la elevada MRT asociada al alo-TPH, se han desarrollado una serie de esquemas de acondicionamiento con intensidad reducida (alo-TIR); el potencial curativo de estos regímenes está basado más en un posible efecto injerto *vs.* leucemia que en la capacidad erradicativa del régimen en sí. A pesar de que el número de pacientes con LH tratados con alo-TPH sigue siendo bajo, la proporción de pacientes con LH refractario o en recaída tratados con alo-TIR ha ido en aumento en Europa en los últimos 5 años. En 1996, los alo-TIR realizados en el contexto del LH constituían menos del 10% del total de alo-TPH; en 2003, los alo-TIR representan más del 80% de toda la actividad alotrasplantadora para esta patología en Europa.

No existen aún en la actualidad series amplias con largo seguimiento que permitan valorar adecuadamente los resultados a largo plazo de este procedimiento; sin embargo, con los datos de los que ya se dispone sí se pueden obtener conclusiones preliminares[110-117]. Es importante destacar, en primer lugar, que los pacientes con LH incluidos en programas de alo-TIR siguen siendo pacientes de muy mal pronóstico; en general, se trata de pacientes con enfermedad de larga evolución, que han recibido muchas líneas de tratamiento previamente, RT previa y que en algunas series hasta el 70% han recaído después de un TASPE previo[110-113,115]. El porcentaje de pacientes alotrasplantados con enfermedad resistente llega al 50% en algunas de las series presentadas[112,113,115]. A pesar de que la incidencia de la EICH aguda y crónica no difieren de manera significativa con respecto al alo-TPH convencional[111,112,115], el alo-TIR parece que se encuentra asociado a una reducción significativa de la MRT en relación al procedimiento convencional. La MRT a los 100 días es del 10-15% en las diferentes series presentadas[110-112,115], y del 25% al año[112,115]. En este sentido, los datos más concluyentes vienen dados por el estudio retrospectivo del EBMT que compara los resultados del alo-TPH convencional con el alo-TIR en un grupo de pacientes con LH refractario o en recaída, en donde la MRT del procedimiento de intensidad reducida es significativamente inferior a la del procedimiento convencional[117] (fig. 28.13). Por otra parte, esta MRT parece ser aún significativamente inferior cuando se utiliza Campath-1H como profilaxis de la EICH aguda formando parte del tratamiento de acondicionamiento[113] (5% a los 100 días del alo-TPH). Un estudio comparativo realizado entre los grupos cooperativos español y del Reino Unido que incluyeron 40 y 49 pacientes, respectivamente, indica que la administración de Campath-1H asociado al tratamiento de acondicionamiento es capaz de reducir de manera significativa la MRT debido a una reducción en la incidencia de EICH agudo y crónico, sin que este hecho parezca tener un efecto deletéreo en el control de la enfermedad después del procedimiento[114].

El factor pronóstico que parece tener más impacto en la SG y en la SLP después del procedimiento es la quimiosensibilidad de la enfermedad al alo-TIR. En este sentido, los pacientes alotrasplantados con enfermedad quimiosensible disfrutan de una SG y SLP superior en relación a los trasplantados con enfermedad quimiorrefractaria. La SG después del procedimiento de intensidad reducida parece superior en relación al procedimiento de intensidad convencional, como lo demuestra el estudio comparativo retrospectivo del EBMT[117]. Sin embargo, los resultados de la SLP no son muy alentadores. Las recaídas de la enfermedad de base siguen siendo el mayor problema después del trasplante, y son significativamente mayores en los pacientes trasplantados con enfermedad quimiorrefractaria[112,115,116]. Por ello, un aspecto de importancia capital es poder demostrar la existencia de un efecto beneficioso injerto *vs.* tumor. En este sentido, algunos estudios indican que los pacientes que desarrollan EICH crónico parecen tener una menor tasa de recaídas que aquellos que no la desarrollan[112] y, en los pacientes que recaen después del alo-TIR, las infusiones de linfocitos del donante (ILD) son capaces de conseguir tasas de respuestas del 50-60% incluso sin ser administradas en combinación con QT de rescate convencional, como lo indican los análisis del grupo cooperativo español[112] y el del Reino Unido[113].

Finalmente, es importante destacar el papel que puede tener el alo-TIR como tratamiento de rescate en pacientes con LH que recaen después de un TASPE. En este subgrupo de pacientes, la MRT sigue siendo aceptable, del 12% y los resultados a largo plazo, sobre todo en los pacientes alotrasplantados por recaídas tardías, aceptables, con SLP del 50% a los 2 años[112].

En resumen, el alo-TIR puede constituir una estrategia terapéutica de rescate válida para los pacientes con LH refractario o en recaída; sin embargo, es necesario disponer de datos de series homogéneas de pacientes amplias y con seguimiento prolongado para resolver muchos de los interrogantes planteados en la actualidad.

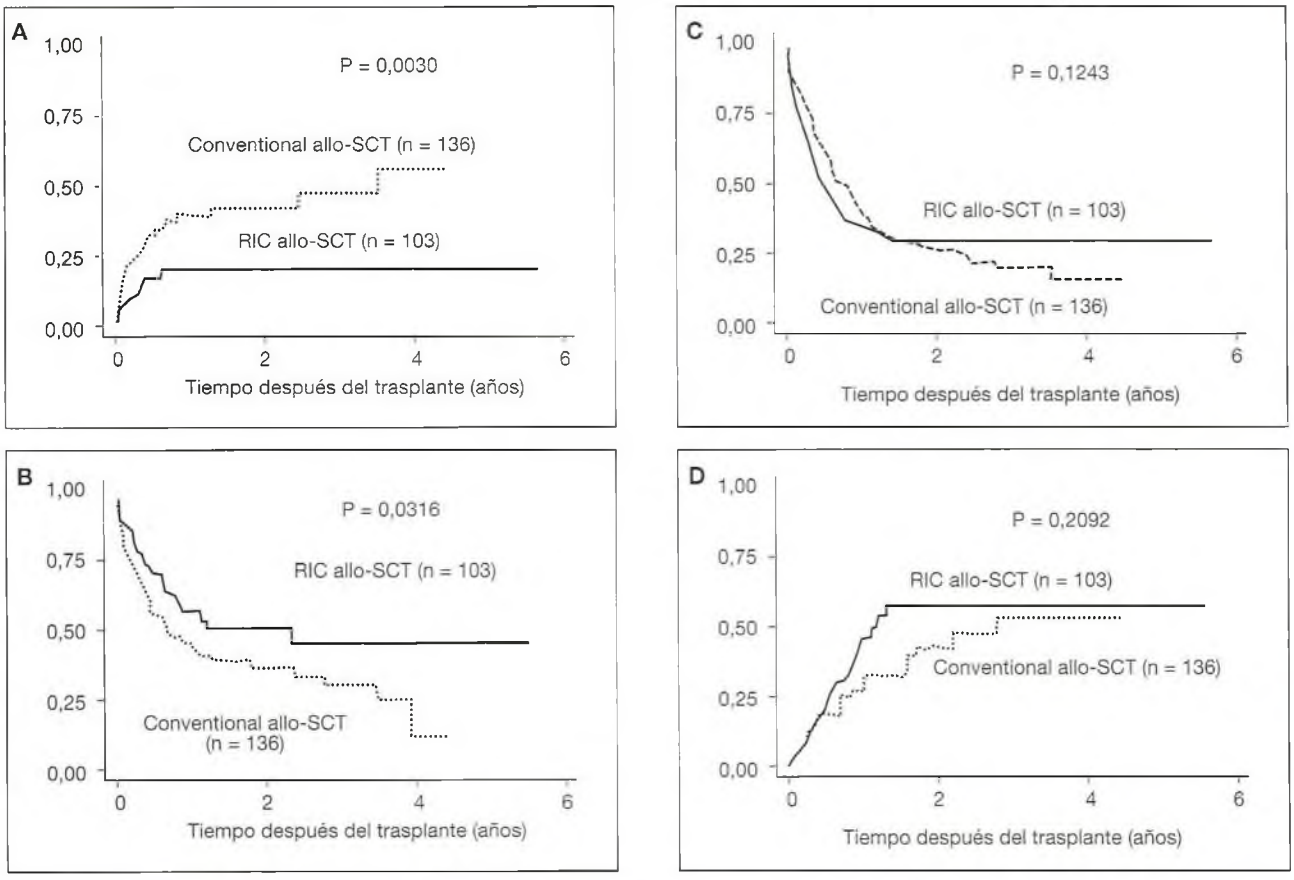


Figura 28.13. Trasplante alogénico con tratamiento de acondicionamiento de intensidad reducida *vs.* trasplante alogénico convencional en el LH refractario o en recaída. Mortalidad relacionada con el procedimiento (fig. 28.13a), supervivencia global (fig. 28.13b), supervivencia libre de progresión (fig. 28.13c) y tasa de recaídas (fig. 28.13d). Resultados del estudio retrospectivo del EBMT.

EFECTOS SECUNDARIOS A LARGO PLAZO

En las tres últimas décadas, y como resultado del desarrollo de técnicas de estadiaje más adecuadas y de regímenes terapéuticos más efectivos, el LH ha pasado de ser una patología mortal a ser una de las neoplasias más curables. A medida que el número de pacientes con LH sobrevive libre de enfermedad aumenta y son seguidos durante períodos de tiempo más prolongados, queda cada vez más claro que, a pesar de todo, su supervivencia media no llega a ser nunca igual a la de la población general. Varios investigadores han demostrado de manera independiente que, a pesar de que la mortalidad específica de los pacientes con LH se nivela con el tiempo, las muertes intercurrentes aumentan con el mismo y, con un seguimiento suficientemente largo, la mortalidad debida a neoplasias secundarias, complicaciones cardíacas y procesos infecciosos puede llegar a exceder la mortalidad secundaria a la enfermedad de base.

La valoración del riesgo de desarrollar neoplasias secundarias y eventos cardiovasculares en pacientes tratados por un LH ha sido facilitada por la disponibilidad de grandes cohortes de pacientes evaluados por grupos cooperativos o de una única institución. En concreto, para el estudio de las NS, los grandes registros geográficos permiten la comparación del riesgo observado de desarrollar una NS con el riesgo esperado de desarrollarla por la población control.

Neoplasias secundarias

Está claramente demostrado que los pacientes tratados por un LH tienen un riesgo aumentado de desarrollar NS, incluyendo tumores sólidos, leucemias agudas y LNH[118]. La edad avanzada en el momento de iniciar el tratamiento constituye un factor de riesgo para el desarrollo de algunas de estas neoplasias. El riesgo de desarrollar un tumor sólido se ha asociado a haber recibido RT previa y a haber recibido la combinación de RT con algún esquema quimioterápico que contenga mostaza nitrogenada. De todos estos estudios se desprende lo siguiente:

1. Los tumores sólidos constituyen la NS más habitual, con una frecuencia del 59-80% y un exceso de riesgo absoluto del 58-75%.
2. Las leucemias y los LNH representan un grupo relativamente pequeño de casos, pero se encuentran asociados a un exceso de riesgo relativo muy incrementado, debido a que la frecuencia de estas neoplasias en la población general es muy baja.
3. Los pacientes jóvenes tienen mayor riesgo relativo de desarrollar tumores sólidos[119,120]; este hecho es, en parte, un reflejo de la baja incidencia de los tumores sólidos en la población control. En pacientes de mayor edad, el exceso de riesgo absoluto se incrementa con el aumento de la edad. Este dato puede verse equilibrado con el riesgo asociado al desarrollo de cáncer de pulmón[119-122].

4. El riesgo acumulado de desarrollar un tumor sólido se incrementa de manera continua, como mínimo hasta los 25 años de seguimiento. Por el contrario, el riesgo de desarrollar una leucemia aguda queda confinado a los 10 primeros años de seguimiento[119].
5. El tratamiento recibido por el paciente se encuentra asociado con riesgos diferentes de desarrollar NS específicas. Así, el riesgo de desarrollar tumores sólidos es superior en los pacientes que reciben RT en comparación con los que reciben QT sola[119,122,124]. Este riesgo puede incrementarse aún más cuando se utilizan campos extensos[122] y, al menos en el caso de algunos tumores sólidos, cuando se utiliza la modalidad combinada de tratamiento[119-124]. El riesgo de desarrollar una NS se incrementa a lo largo del tiempo en pacientes que han recibido RT, mientras que la existencia de una fase *plateau* sugiere más que el paciente ha recibido QT sola[119].

Complicaciones cardiovasculares

La información existente acerca del riesgo de desarrollar complicaciones cardiovasculares por parte de los pacientes tratados por un LH es menos específica, puesto que los registros geográficos desarrollados para las enfermedades cardiovasculares son menos sofisticados que los desarrollados para las NS. Además, existen diferentes tipos de eventos cardiovasculares (enfermedad coronaria, enfermedad valvular y pericárdica) y éstos pueden evaluarse mediante diferentes métodos (detección asintomática o sintomática, asociación con hospitalización y/o intervención quirúrgica, muerte). Las observaciones que se desprenden de los diferentes estudios publicados recientemente indican que:

1. El riesgo actuarial de desarrollo de enfermedad coronaria sintomática es del 6% a los 10 años y del 10-20% a los 20 años[125,126]. Estas tasas representan riesgos relativos de intervención quirúrgica y/u hospitalización de 1,5-2,0. Los riesgos actuariales de fallecer de isquemia cardíaca son del 2-6% a los 10 años y del 10-12% a los 15-25 años. Estas tasas representan riesgos relativos aproximadamente de cinco veces en relación a la población control[126].
2. El riesgo actuarial de eventos vasculares no cardíacos es de, aproximadamente, el 3% a los 10 años, y del 7% a los 20 años[125].
3. El riesgo actuarial de enfermedad valvular cardíaca es del 4% a los 15 años, y del 6% a los 20 años. Esto representa riesgos relativos de 8 a 9 con respecto a la necesidad de sustituciones valvulares de la población general[125].
4. El riesgo de desarrollar problemas cardiológicos es especialmente elevado en pacientes con factores de riesgo conocidos, como la hipertensión arterial y la hiperlipemia. La utilización de QT combinada con RT no parece que incremente de manera significativa este riesgo[125,126].

En resumen, los pacientes tratados por un LH presentan un riesgo aumentado de desarrollar NS y complicaciones cardiovasculares; estos eventos actualmente constituyen una de las causas más importantes de muerte en pacientes con LH que debutan en estadios iniciales. Estos riesgos son debidos fundamentalmente a la utilización de RT. A pesar de que parece razonable proponer una reducción tanto en la dosis como el campo de RT administrados para disminuir complicaciones a largo plazo, es necesario disponer de los resultados y del seguimiento a largo plazo de los diferentes estudios aleatorizados existentes en la actualidad que analizan estas estrategias.

BIBLIOGRAFÍA

1. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. Tumours of haematopoietic and lymphoid tissues, Lyon: IARC Press, International Agency for Research on Cancer, 2001; 175-176.
2. Falini B, Bigerna B, Pasqualucci L et al. Distinctive expression pattern of the BCL-6 protein in nodular lymphocyte predominance Hodgkin's disease, Blood 1996; 87:465-471.
3. Küppers R, Rajewsky K, Zhao M et al. Hodgkin disease: Hodgkin and Reed-Sternberg cells picked from histological sections show clonal immunoglobulin gene rearrangements and appear to be derived from B cells at various stages of development. Proc Natl Acad Sci USA 1994; 91:10962-10966.
4. Kanzler H, Küppers R, Hansmann ML et al. Hodgkin and Reed-Sternberg cells in Hodgkin's disease represent the outgrowth of a dominant tumor clone derived from (crippled) germinal center B cells. J Exp Med 1996; 184:1495-1505.
5. M Müschen, K Rajewsky, A Brauninger et al. Rare occurrence of classical Hodgkin's disease as a T cell lymphoma. J Exp Med 2000; 191:387-394.
6. Seitz V, Humme M, Marafioti T et al. Detection of clonal T-cell receptor gamma-chain gene rearrangements in Reed-Sternberg cells of classic Hodgkin disease Blood 2000; 95:3020-3024.
7. Braeuninger A, Küppers R, JStrickler JG et al. Hodgkin and Reed-Sternberg cells in lymphocyte predominant Hodgkin disease represent clonal populations of germinal center-derived tumor B cells. Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94:9337-9342.
8. Marafioti T, Hummel M, Anagnostopoulos I et al. Origin of nodular lymphocyte-predominant Hodgkin's disease from a clonal expansion of highly mutated germinal-center B cells. N Engl J Med 1997; 337:453-458.
9. Mueller N, Evans A, Harris NL et al. Hodgkin's disease and Epstein-Barr virus. Altered antibody pattern before diagnosis. N Engl J Med 1989; 320:689-695.
10. Weiss LM, Strickler JG, Warnke RA, et al. Epstein-Barr viral DNA in tissues of Hodgkin's disease. Am J Pathol 1987; 129:86-91.
11. Pallesen G, Hamilton-Dutoit SJ, Rowe M et al. Expression of Epstein-Barr virus latent gene products in tumour cells of Hodgkin's disease. Lancet 1991; 337:320-322.
12. Herbst H, Dallenbach F, Hummel M et al. Epstein-Barr virus latent membrane protein expression in Hodgkin and Reed-Sternberg cells. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88:4766-4770.
13. Niedobitek G, Kremmer E, Herbst H et al. Immunohistochemical detection of the Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein 2A in Hodgkin's disease and infectious mononucleosis. Blood 1997; 70:1664-1672.
14. Gires O, Zimber-Strobl U, Gonnella R et al. Latent membrane protein 1 of Epstein-Barr virus mimics a constitutively active receptor molecule. EMBO J 1997; 16:6131-6140.
15. Caldwell RG, Wilson JB, Anderson SJ et al. Epstein-Barr virus LMP2A drives B cell development and survival in the absence of normal B cell receptor signals. Immunity 1998; 9:405-411.
16. Stein H, Mason DY, Gerdes J et al. The expression of the Hodgkin's disease associated antigen Ki-1 in reactive and neoplastic lymphoid tissue:evidence that Reed-Sterberg cells and histiocytic malignancies are derived from activated lymphoid cells. Blood 1985; 66:848-858.
17. Stein H, Gerdes J, Kirchner H, Schaadt M, Diehl V. Hodgkin and Sternberg-Reed cell antigen(s) detected by an antiserum to a cell line (L428) derived from Hodgkin's disease. Int J Cancer 1981; 28:425-429.
18. Stein H, Uchanska-Ziegler B, Gerdes J, Ziegler A, Wernet P. Hodgkin and Sternberg-Reed cells contain antigens specific to late cells of granulopoiesis. Int J Cancer 1982; 29:283-290.

CAPÍTULO 29

Patología del sistema mononuclear fagocítico. Histiocitosis de células de Langerhans. Síndromes hemofagocíticos. Síndromes histiocíticos malignos. Histiocitosis acumulativas

E. Feliu, B. Xicoy y J. M.ª Ribera

ÍNDICE

Sistema mononuclear fagocítico. Introducción
Patología del sistema mononuclear fagocítico. Clasificación
Histiocitosis de células de Langerhans
Manifestaciones clínicas
Diagnóstico anatomopatológico
Pronóstico
Tratamiento
Síndromes hemofagocíticos
Síndrome hemofagocítico reactivo
Patogenia
Diagnóstico diferencial
Pronóstico
Tratamiento
Linfohistiocitosis hemofagocítica familiar (LHF)
Síndromes histiocíticos malignos
Histiocitosis maligna (sarcoma histiocítico)
Histiocitosis acumulativas
Enfermedad de Gaucher
Enfermedad de Niemann-Pick
Otras histiocitosis acumulativas
Bibliografía

SISTEMA MONONUCLEAR FAGOCÍTICO. INTRODUCCIÓN

Se denomina sistema mononuclear fagocítico (SMF) al conjunto de células mononucleadas que presentan una gran actividad fagocítica. Este término fue acuñado tras una reunión de expertos presidida por Van Furth en 1969, y sustituyó a los antiguos términos de sistema reticuloendotelial y sistema reticulohistiocitario (retículo por la red de prolongaciones citoplasmáticas y endotelial porque estas células residían cerca del endotelio vascular).

El proceso de diferenciación de la línea monocito-macrofágica se origina en una célula madre pluripotencial, común a todas las células de la hematopoyesis (eritroides, megacariocíticas, granulomonocíticas y linfoides). El granulocito y el macrófago comparten un progenitor común, la unidad formadora de colonias granulocíticas y macrofágicas (CFU-GM). El CFU-GM da lugar a otro progenitor, el CFU-M o unidad formadora de colonias monocitomacrofágicas. El primer precursor identificable en la médula ósea es el monoblasto, que dará origen al promonocito y éste se diferenciará en el típico monocito, el cual circula en la sangre periférica y, una vez llegado a los tejidos, se diferencia morfológica y funcionalmente, transformándose en un macrófago libre, macrófago propiamente dicho –de *fago* (comer) y *macro* (grande)– o en un macrófago fijo o histiocito –palabra derivada del latín *histion* (red pequeña) y *kytos* (célula)– (fig. 29.1).

El proceso de la diferenciación granulocítica está regulado por diversas glucoproteínas sintetizadas por las células de la estroma y accesorias de la médula ósea (fibroblastos, linfocitos T, células endoteliales y los propios monocitos y macrófagos), que reciben la denominación de factores estimuladores de colonias. Entre ellos, destacan cuatro que han sido purificados, clonados y caracterizados funcionalmente: el factor estimulador de colonias granulocítico-macrofágicas (GM-CSF); la interleucina 3 (IL-3) o multi CSF, el factor estimulador de colonias macrofágicas (M-CSF) y el factor estimulador de colonias granulocíticas (G-CSF). Los tres primeros intervienen en la diferenciación monocítica y macrofágica.

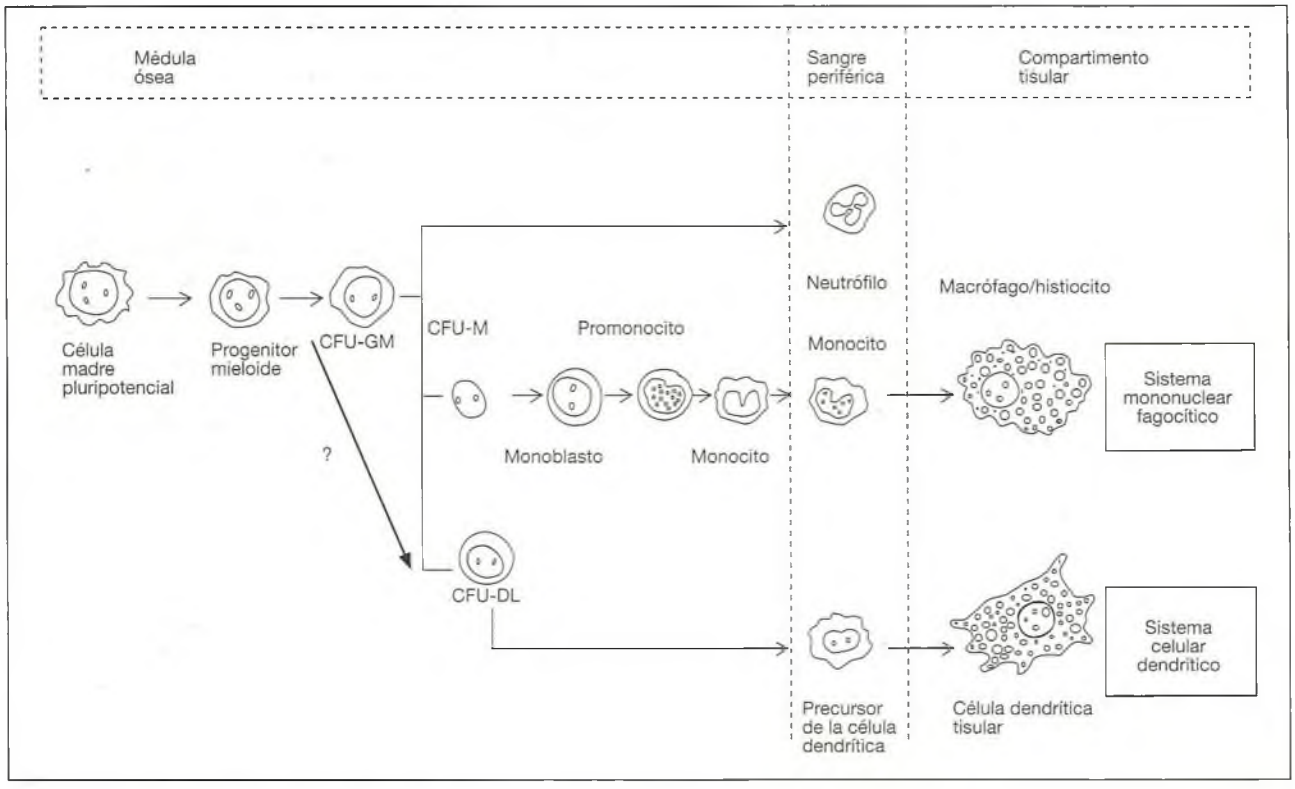


Figura 29.1. Diferenciación de las células de la línea monocito-macrofágica. CFU-DL: unidad formadora de colonias de células dendríticas de Langerhans; CFU-GM: unidad formadora de colonias granulocíticas y macrofágicas; CFU-M: unidad formadora de colonias macrofágicas.

Las células del SMF tienen como principales misiones las de defender al huésped frente a la agresión de diversos agentes, principalmente de tipo infeccioso (gracias a sus propiedades de migración, fagocitosis y actividad microbicida), eliminar las células sanguíneas viejas o alteradas, presentar antígenos al sistema inmunitario y estimular el proceso inflamatorio mediante la síntesis de múltiples factores solubles, como el interferón, las interleucinas, las prostaglandinas, el factor de necrosis tumoral y los factores de crecimiento de las células hemopoyéticas. El SMF se halla en numerosos órganos, principalmente en el bazo, hígado, ganglios linfáticos y pulmón. Los macrófagos fijos o histiocitos tisulares pueden ser esplénicos, hepáticos (células de Kupffer), alveolares, de los ganglios linfáticos, del tejido óseo (osteoclastos), macrófagos de las serosas peritoneal y pleural, células de la microglia, células sinoviales, macrófagos del tubo digestivo, de la médula ósea, de las glándulas mamarias y células de Langerhans de la piel. En condiciones patológicas, los macrófagos adoptan diversa morfología (células gigantes de Langhans, de cuerpo extraño y células epitelioides).

Las células del SMF se caracterizan, además de su morfología, por ser muy ricas en hidrolasas ácidas (fosfatasa ácida, beta-glucuronidasa, alfa-naftil-acetato-esterasa ácida) y esterasas inespecíficas, en adaptación a su intensa capacidad digestiva. También contienen muramidasa, proteasas neutras, inhibidores enzimáticos como la α_2-macroglobulina, factor quimiotáctico de los neutrófilos y ciertas proteínas, como fibronectina y transcobalamina II. Tienen receptores de superficie para el C3 y la región Fc de las inmunoglobulinas, e inmunológicamente se identifican mediante anticuerpos monoclonales específicos (CD68, CD11c). No deben contener inmunoglobulinas intracelulares y poseen fagocitosis inmune, así como adherencia al vidrio[1].

Por otra parte, las células dendríticas también comportan un origen común con los macrófagos y se originan en la médula ósea a partir de un progenitor $CD34^+$ cuya diferenciación es regulada por la unidad formadora de colonias dendrítico-células de Langerhans CFU-DL (fig. 29.1). Los precursores de la célula dendrítica entran en la circulación desde la médula ósea, y llegan a los tejidos para transformarse en células dendríticas, cuya misión principal es la presentación de antígenos. La célula dendrítica es de gran tamaño, tiene múltiples prolongaciones citoplasmáticas, está desprovista de lisosomas y otras organelas, y es rica en mitocondrias.

PATOLOGÍA DEL SISTEMA MONONUCLEAR FAGOCÍTICO. CLASIFICACIÓN

Los procesos patológicos de las células del SMF (tabla 29.1) se pueden subdividir en dos grupos según afecten: *a*) los monocitos de la médula ósea y la sangre periférica, o *b*) los macrófagos o histiocitos de los diversos órganos y tejidos, de los que los más característicos son las histiocitosis. Los primeros se han estudiado en otros capítulos del libro, por lo que en este capítulo se tratarán únicamente las histiocitosis[2,3]. El término *histiocitosis* designa un grupo de enfermedades caracterizadas por la proliferación localizada o generalizada, reactiva o neoplásica, de células de la serie histiocítica, ya sean procesadoras de antígenos (monocitos/macrófagos) o presentadoras de antígenos (células den-

tríticas)[4,5]. En 1987 la Histiocyte Society propuso una clasificación de las histiocitosis en tres clases: la clase I, que corresponde a la histiocitosis de células de Langerhans (HCL), que incluye el granuloma eosinófilo, la enfermedad de Hand-Schüller-Christian y la enfermedad de Letterer-Siwe; la clase II, que comprende las histiocitosis de células del SMF diferentes de la HCL (síndromes hemofagocíticos asociados con infecciones, la linfohistiocitosis hemofagocítica familiar y la histiocitosis sinusal con linfadenopatía masiva), y la clase III, que corresponde a las histiocitosis malignas (leucemia aguda monocítica, leucemia mielomonocítica crónica, histiocitosis maligna y el linfoma histiocítico verdadero). Bajo los auspicios de la OMS y de la propia Histiocyte Society esta clasificación se modificó en 1997[7], de modo que para clasificar las histiocitosis se tienen en cuenta dos hechos: su naturaleza benigna o maligna, y la célula proliferante: macrófago o célula dendrítica (tabla 29.1). En esta clasificación se consideran múltiples entidades, de las cuales únicamente se describirán las más relevantes.

TABLA 29.1

Clasificación de las enfermedades del sistema mononuclear fagocítico

Trastornos de los monocitos
- Monocitopenia: aplasia medular, tricoleucemia, tratamiento con glucocorticoides
- Monocitosis
  - Reactiva: infecciones, colagenosis
  - Maligna: leucemia monoblástica aguda (LAM_5a), leucemia monocítica aguda (LAM_5b), leucemia mielomonocítica aguda (LAM_4), leucemia mielomonocítica crónica

Trastornos de los histiocitos o macrófagos
- Déficit de macrófagos: osteopetrosis (déficit aislado de osteoclastos)
- Histiocitosis
  - Acumulativas
    - Lisosomopatías genéticas: enfermedades de Gaucher, Niemann-Pick, Tay-Sachs, Fabry, Wolman y Tangier
    - Otras esfingolipidosis, mucopolisacaridosis y mucolipidosis
  - Proliferativas
    - Histiocitosis de curso clínico variable
      - Derivadas de células dendríticas
        - Histiocitosis de células de Langerhans
        - Xantogranuloma juvenil
        - Proliferaciones secundarias de células dendríticas
        - Histiocitoma solitario de células dendríticas
      - Derivadas de macrófagos: síndromes hemofagocíticos
        - Histiocitosis hemofagocítica familiar o primaria
        - Síndromes hemofagocíticos reactivos: infecciones, neoplasias, otros
        - Histiocitosis sinusal con linfadenopatía masiva (enfermedad de Rosai-Dorfman)
        - Histiocitoma solitario de macrófagos
        - Otras: reticulohistiocitosis multicéntrica, histiocitoma eruptivo generalizado
    - Histiocitosis malignas (sarcoma histiocítico)
      - De células dendríticas (localizado o diseminado)
      - De macrófagos (localizado o diseminado)

HISTIOCITOSIS DE CÉLULAS DE LANGERHANS

Bajo esta denominación se agrupan diversos procesos cuya principal característica es una proliferación, de naturaleza no bien aclarada, de células de Langerhans, las cuales se hallan normalmente en la piel y otros lugares como las mucosas, los ganglios linfáticos, el timo y el bazo, e intervienen en el procesamiento y presentación de antígenos. Durante años, dicho proceso recibió la denominación de histiocitosis X[8-11].

No está resuelta la cuestión de si las células de Langerhans proliferantes son células normales o anormales. En las HCL se produciría una estimulación antigénica de las células de Langerhans que induciría, a su vez, una reacción inmunológica localizada, la cual incluiría la activación secundaria y proliferación de células T antígeno-específicas, de queratinocitos en la piel y de macrófagos. Otra posible causa de la proliferación masiva de células de Langerhans sería una respuesta anormal de dichas células frente a estímulos generados por células T anormales.

No se ha demostrado una causa infecciosa, supuestamente viral. Tampoco se sabe si la HCL es un proceso reactivo o neoplásico. El hecho de que en muchos casos de HCL se haya demostrado que la proliferación de células de Langerhans es clonal, iría a favor de neoplasia. Por el contrario, el espectro clínico tan variable de las HCL, con casos de regresión espontánea de las lesiones, indicaría que se trata de un proceso reactivo. De hecho, las células implicadas en las lesiones (células de Langerhans, monocitos, eosinófilos y linfocitos) son células de naturaleza inmunorreactiva. Por otra parte, este proceso puede cursar con diversos trastornos inmunológicos que incluyen hipo, hiper o disgammaglobulinemia, presencia de autoanticuerpos, respuestas linfocitarias *in vitro* anómalas frente a mitógenos, linfocitos alogénicos y antígenos específicos, y alteraciones de las poblaciones linfocitarias, principalmente déficit de linfocitos T supresores. La proliferación celular estaría potenciada por la producción de citocinas (IL-1, IL-4, IL-8, GM-CSF y factor de necrosis tumoral alfa [TNF-α], entre otras) y de moléculas de adhesión celulares.

Desde el punto de vista clínico, la HCL es una entidad muy heterogénea, mal definida y con criterios diagnósticos y pronósticos muy variables. Se ha dicho que es una enfermedad multiforme en su historia natural, heterogénea en su clínica, confusa en su nomenclatura, misteriosa en su etiología y difícil de estudiar. Por los datos epidemiológicos, genéticos, anatomopatológicos y clínicos, puede ser considerada como una neoplasia proliferativa clonal con manifestaciones clínicas variables.

Manifestaciones clínicas

La HCL tiene una incidencia anual de 3-7 casos por millón de habitantes. Los signos y síntomas de la HCL varían considerablemente, en función de los órganos infiltrados por estas células y por otras células inmunorreactivas asociadas. La enfermedad puede afectar muchos tejidos y órganos, como huesos, piel, mucosas y encías, glándulas endocrinas, pulmones, hígado, bazo, ganglios linfáticos y médula ósea. Puede ser unifocal o multifocal y presentarse en todos los grupos de edad. Sin embargo, el 50% o más de casos se producen en niños entre 1 y 15 años. El pronóstico depende de la edad, y también del lugar y extensión de la enfermedad.

Así, los niños de menos de un año y los adultos mayores de 65 años tienen peor pronóstico. La HCL se observa igualmente en varones y mujeres, aunque ciertas formas del proceso se producen más en un sexo que en otro. Por ejemplo, la afección pulmonar es más frecuente en varones. También hay diferencias raciales; así, la enfermedad es más frecuente en norteuropeos, mientras que afecta raramente a la raza negra. Las lesiones únicas son más frecuentes que las múltiples, y durante el primer año tras el diagnóstico pueden aparecer otras adicionales o progresar las ya existentes. Con mayor frecuencia, la enfermedad se prolonga durante varios años. Rara vez se presenta de forma bien definida, de modo que permita su identificación inicial como un granuloma eosinófilo, enfermedad de Hand-Schüller-Christian o enfermedad de Letterer-Siwe[12-25].

La afección unifocal o multifocal del hueso es la forma clínica más frecuente (el 60-80% de todos los casos de HCL) y suele localizarse con preferencia en huesos planos, sobre todo en los del cráneo (se denomina *granuloma eosinófilo*). También puede afectar a la mandíbula, escápulas, costillas, vértebras, fémur y pelvis. Afecta predominantemente a niños entre 5 y 10 años, y también a adultos jóvenes con menos de 30 años. Los pacientes refieren dolores óseos, a veces acompañados de tumefacción de las partes blandas adyacentes. Radiológicamente, las lesiones óseas se observan bien delimitadas, con perfil redondeado u oval, o pueden adoptar un aspecto geográfico o festoneado. Las lesiones vertebrales aparecen principalmente en la región cervical, y pueden producir compresión medular. El estado general de los pacientes está conservado.

Cuando la enfermedad cursa con la tríada sintomática de lesiones óseas, exoftalmos y diabetes insípida, recibe la denominación de *enfermedad de Hand-Schüller-Christian*, aunque en la práctica sólo excepcionalmente se dan estas tres manifestaciones juntas. Esta forma de presentación se observa preferentemente en niños entre 2 y 5 años y representa el 15-40% de todos los casos de HCL. Los huesos afectados con mayor frecuencia son los planos del cráneo, especialmente los temporales, así como las costillas, la pelvis y las escápulas. El estudio radiográfico de los mismos permite observar la presencia de lesiones irregulares radiotransparentes que originan el denominado «cráneo geográfico». Con menos frecuencia se afectan los huesos largos y las vértebras de la región lumbosacra, localizándose las lesiones preferentemente en la porción anterior del cuerpo vertebral.

La afección de la cavidad orbitaria, con la acumulación de tejido granulomatoso retroocular, es la causante del exoftalmos. Los pacientes pueden presentar pérdida de visión o estrabismo, debidos a la afección del nervio óptico o de la musculatura ocular, respectivamente.

La afección de la cavidad oral se produce inicialmente en las encías y en la región periapical de los dientes. Ello conduce a una dentición prematura y a la caída de piezas dentarias, a lo cual contribuye también la destrucción de los huesos maxilares. La afección auditiva se presenta en forma de otitis externa y de otitis media que no responden al tratamiento, y es debida a invasión de las regiones mastoidea y petrosa del hueso temporal. La invasión puede llegar hasta el laberinto y producir sordera permanente. La diabetes insípida es la más frecuente de las manifestaciones endocrinas. En los niños, su incidencia se sitúa entre el 5 y el 50% y se debe a infiltración del hipotálamo y de la pituitaria posterior. Otras alteraciones endocrinas son el hipogonadismo y la pubertad retardada por infiltración hipotalámica.

La forma más grave e infrecuente (el 10% de los casos) de la HCL recibe la denominación de *enfermedad de Letterer-Siwe*. Afecta a niños menores de 2 años, y se presenta de forma aguda o subaguda, con fiebre, mal estado general y una erupción maculopapular o nodulopapular, descamativa seborreica, eccematoide y, a veces, purpúrica, localizada en el cuero cabelludo, pabellones auriculares, abdomen, áreas intertriginosas y facies, y que corresponde a la infiltración histiocítica de la dermis y epidermis (figs. 29.2 y 29.3). Las lesiones cutáneas pueden ulcerarse y ser la puerta de entrada de infecciones sépticas. Estos enfermos presentan, además, adenopatías, a veces de gran tamaño, que corresponden a adenitis satélites de las lesiones cutáneas sobreinfectadas, así como hepatosplenomegalia. También pueden presentar tos y disnea por infiltración pulmonar. Los casos graves cursan con alteración funcional hepática, hipoproteinemia y trastornos de la coagulación. Desde el punto de vista hematológico, suelen cursar con anemia y trombocitopenia de mecanismo no bien aclarado, puesto que sólo excepcionalmente se halla en la médula ósea un aumento de histiocitos y de eosinófilos, siendo rara la infiltración difusa de la misma.

Entre otras localizaciones de la HCL están la cerebral, la pulmonar, la ganglionar y la gastrointestinal. Las lesiones de

Figura 29.2. Lesiones cutáneas papuloerosivas localizadas en el área centrofacial en un niño con una histiocitosis de células de Langerhans. Cortesía del doctor C. Ferrándiz.

Figura 29.3. Úlcera profunda en paladar duro en un caso de histiocitosis de células de Langerhans (HCL). Cortesía del doctor C. Ferrándiz.

la calota craneal pueden extenderse a través de la duramadre e invadir el cerebro. La afección pulmonar aislada se observa en jóvenes y adultos de mediana edad, predomina en el varón en una relación de 4:1, y parece tener una estrecha relación con el consumo de tabaco; en cambio, la afección pulmonar en pacientes con HCL sistémica se produce predominantemente en niños. Los síntomas y signos pulmonares son inespecíficos e incluyen tos, disnea, dolor torácico, fiebre y hemoptisis, aunque el 23% de los casos permanecen asintomáticos. En la radiografía de tórax pueden observarse desde infiltrados intersticiales bilaterales hasta imágenes en «panal de miel» debidas a fibrosis pulmonar, bullas y neumotórax. En el intestino, la infiltración histiocitaria de la lámina propia puede producir un cuadro de diarrea o malabsorción. La HCL puede adoptar una presentación ganglionar, con una o múltiples adenopatías de gran tamaño y escasa o nula presencia de la enfermedad en otros lugares. La infiltración ganglionar es sinusoidal, desde donde puede extenderse al paracórtex. En la médula ósea la invasión suele ser nodular, por lo que existe mayor posibilidad de detectarla mediante biopsia que por punción aspirativa. También se han descrito afecciones tiroidea y pancreática.

Se han desarrollado diversos sistemas de estadificación clínica[27] para la HCL. El recomendado por Lavin y Osband[27] considera diversas variables pronósticas como la edad de presentación (menos de 2 años frente a más de 2 años de edad), el número de órganos afectados (menos de 4 órganos frente a 4 o más) y la presencia o ausencia de disfunción orgánica. En la tabla 29.2 se especifica este sistema de estadificación clínica. Los estadios van del I al IV según la puntuación de 0 a 3. Los estadios (y puntuación) más avanzados se asocian a un pronóstico desfavorable. En suma, el pronóstico de los pacientes con HCL depende de tres factores: la edad del enfermo en el momento del diagnóstico, el número de órganos afectados y el grado de disfunción de los mismos. Así, se consideran de buen pronóstico los mayores de 2 años, con afectación de escasos órganos y sin alteración funcional de los mismos, mientras que los menores de 2 años y con afectación morfológica y funcional multiorgánica tienen mal pronóstico.

TABLA 29.2

Sistema de estadificación clínica de la histiocitosis de células de Langerhans

Variable	N.º de puntos
Edad de presentación	
≥ 2 años	0
< 2 años	1
Número de órganos afectados	
≤ 4	0
> 4	1
Presencia de disfunción orgánica*	
No	0
Sí	1
Estadio**	Total puntos
I	0
II	1
III	2
IV	3

Criterios de disfunción orgánica:
1. *Hepática*: uno o más de los siguientes hallazgos: hipoproteinemia (proteínas totales < 5,5 g/dL y/o albúmina < 2,5 g/dL), hiperbilirrubinemia (> 1,5 mg/dL), edema, ascitis
2. *Pulmonar*: uno o más de los siguientes hallazgos: taquipnea, disnea, cianosis, tos, neumotórax, derrame pleural
3. *Hematopoyética*: uno o más de los siguientes hallazgos: anemia en ausencia de ferropenia o de infección (hemoglobina < 10 g/dL), leucopenia (< 4.000/μL), neutropenia (< 1.500/μL), trombocitopenia (< 100.000/μL)

*Hepática, pulmonar o hematopoyética.
**El estadio se determina sumando puntos de las tres variables.
Tomada de Lavin PT, Osband ME. Hematol Oncol Clin North Am 1987; 1:35-47.

Diagnóstico anatomopatológico

La característica esencial para el diagnóstico de la HCL es la proliferación de células de Langerhans en las lesiones. La lesión básica consiste en un granuloma constituido por células de Langerhans junto con granulocitos, monocitos, linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos (fig. 29.4). Pueden observarse tres patrones morfológicos:

1. Proliferativo, con abundantes células de Langerhans, entre las cuales se encuentran algunos linfocitos, eosinófilos y hematíes extravasados.
2. Granulomatoso, en el cual las células de Langerhans se acompañan de abundantes eosinófilos, neutrófilos, linfocitos y células gigantes multinucleadas, configurando un auténtico granuloma.
3. Fibroxantomatoso, con predominio de macrófagos espumosos o vacuolados, escasas células de Langerhans y un grado variable de fibrosis.

Estos patrones representan hasta cierto punto una secuencia evolutiva relacionada con la antigüedad de la lesión, más que con el subtipo clínico de HCL.

La célula de Langerhans es una célula dendrítica que pertenece al SMF. Deriva de un monocito que desarrolla un determinante antigénico compartido con los timocitos e identificado por el anticuerpo monoclonal CD1a. Su transformación en célula de Langerhans se produce en las áreas perivasculares de la dermis superficial y en la epidermis, adquiriendo el perfil dendrítico característico y su típica organela (gránulo de Birbeck). La célula de Langerhans se localiza normalmente en la piel, las mucosas, los ganglios linfáticos, el timo y el bazo. Su misión es procesar y presentar antígenos a los linfocitos T y, a diferencia de otros histiocitos, no tiene capacidad fagocítica. Mide unos 12 μm de diámetro, tiene un núcleo único de situación periférica con una hendidura profunda central y un citoplasma claro ligeramente eosinófilo. Posee una serie de marcadores que permiten identificarla de forma precisa. Así, en ella se detecta citoquímicamente ATP-asa, ADP-asa y alfa-manosidasa, mientras que, a diferencia de otros histiocitos, apenas contiene esterasas inespecíficas, α_1-antiquimotripsina, antitripsina, lisozima y fosfatasa ácida. Para algunos autores, la subunidad beta de la proteína S-100 es su mejor marcador (fig. 29.5), aunque otras células también son positivas para dicha proteína. Los monocitos-macrófagos, ocasionalmente, pueden expresar la subunidad alfa de la proteína S-100, pero

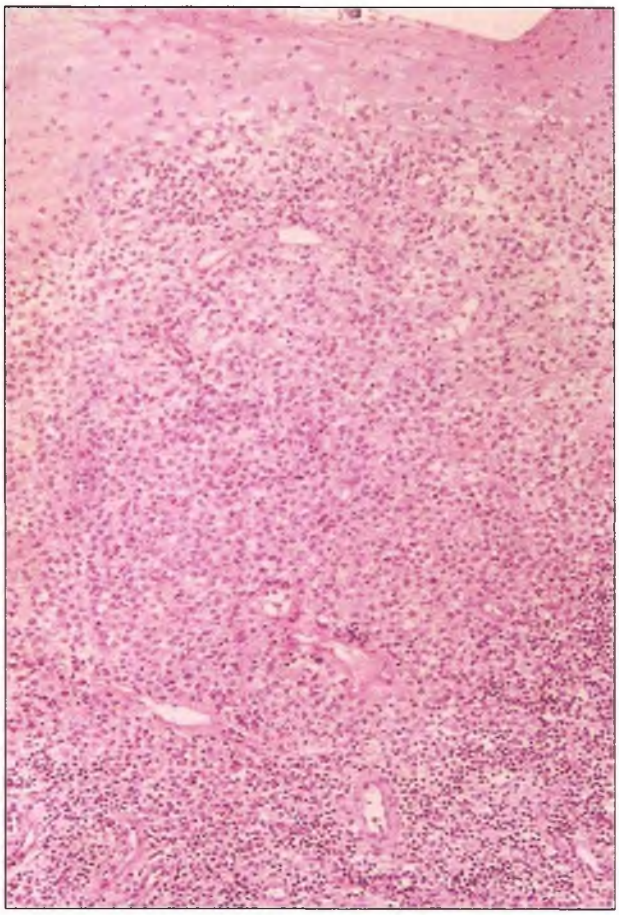


Figura 29.4. Lesión vulvar en un paciente con histiocitosis de células de Langerhans (HCL). Infiltración masiva de la dermis por una proliferación de células histiocitarias. Cortesía del doctor C. Ferrándiz.

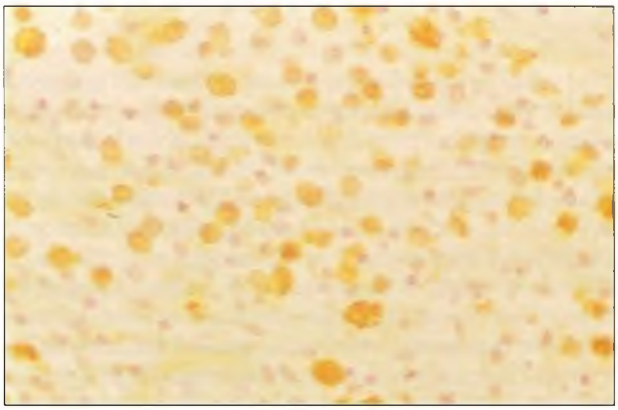


Figura 29.5. Lesión cutánea en un paciente con histiocitosis de células de Langerhans (HCL). Positividad para la proteína S-100 en las células de Langerhans. Cortesía del doctor C. Ferrándiz.

nunca la beta. La lectina de cacahuete también es un buen marcador de la célula de Langerhans, incluso superior a la proteína S-100, según algunos autores, con un típico patrón de positividad en la membrana citoplasmática y en la región centrosómica, en tanto que los restantes histiocitos tienen una positividad citoplasmática difusa, y los histiocitos malignos evidencian una reacción negativa. Inmunológicamente, la célula de Langerhans posee receptores para la región Fc de la IgG y para el C3, así como antígenos HLA-DR, CD4 y CD1 (antígeno T6), produce IL-1 y es positiva para la vimentina. En el examen ultraestructural muestra unas típicas subestructuras citoplasmáticas denominadas diversamente cuerpos o gránulos de Langerhans, cuerpos X, gránulos de Birbeck o cuerpos «en raqueta». Se trata de estructuras baciliformes o en forma de raqueta, de longitud variable y una anchura regular de aproximadamente 42 nm, con membranas externas simétricas y una línea central que ofrece una periodicidad transversal de aproximadamente 10-12 nm. Los cuerpos de Langerhans se hallan con frecuencia en estrecha proximidad a la membrana celular, y las tinciones con lantano demuestran su relación de continuidad con la misma (fig. 29.6), habiéndose relacionado con la interiorización de los antígenos.

Figura 29.6. Detalle del citoplasma de una célula de Langerhans en el que se observa un típico cuerpo X.

Las células de Langerhans patológicas presentes en las lesiones tienen ciertas características que las diferencian de las células de Langerhans normales. Así, mientras el patrón de tinción para la lectina y el PNA es débil y difuso en las células de Langerhans normales, en las patológicas es intenso y se localiza en la superficie celular y en la región perinuclear. Además, las células patológicas expresan niveles elevados de fosfatasa alcalina placentaria, receptor del interferón gamma (IFN-γ), receptores para CD86 y CD80 y niveles elevados del antígeno nuclear P53, así como una potente actividad estimulante de los linfocitos T. Según los criterios de la Histiocyte Society, para considerar a una célula de Langerhans como tal es preciso demostrar, junto a la morfología característica, la presencia de CD1a en su superficie o bien de gránulos de Birbeck en su citoplasma. Los criterios patológicos para el diagnóstico de la HCL se exponen en la tabla 29.3.

Pronóstico

El pronóstico de los pacientes con HCL[28] depende de tres factores: edad del paciente, número de órganos afectados y grado de disfunción de los mismos. La respuesta inicial al tratamiento parece ser también un factor pronóstico. Son factores de mal pronóstico, una edad inferior a 2 años y la

TABLA 29.3

Criterios de la Histiocyte Society (1987) para el diagnóstico de la histiocitosis de células de Langerhans

I. *Diagnóstico de presunción.* Hallazgos morfológicos en un material de biopsia teñido mediante un método convencional que son «compatibles» con los definidos en la bibliografía
II. *Diagnóstico.* Un mayor grado de seguridad diagnóstica que comprende el diagnóstico de presunción más la presencia de dos o más de los siguientes hallazgos: tinción positiva para ATPasa, proteína S-100, α-manosidasa o lectina de cacahuete
III. *Diagnóstico definitivo.* Se exige la demostración de los gránulos de Birbeck mediante estudio ultraestructural o de los determinantes antigénicos CD1a sobre secciones de muestras fijadas en parafina o por congelación en el contexto del diagnóstico de presunción (I) o del diagnóstico (II)

Tomada de Hall et al. Histopathology 1987; 11:1181.

disfunción de ciertos órganos considerados de riesgo (hígado, bazo, pulmón y sistema hematopoyético). El Southwest Oncology Group ha elaborado un esquema pronóstico según el cual se divide a los enfermos en tres grupos: riesgo alto (menores de 2 años con disfunción de órgano), riesgo intermedio (menores de 2 años sin disfunción de órgano) y riesgo bajo (mayores de 2 años sin disfunción de órgano). El 20% de los pacientes con afección multiorgánica no responde al tratamiento estándar.

Tratamiento

Es difícil de sistematizar, por la presentación y curso clínico tan variables y por la escasa frecuencia de las HCL, lo que dificulta llevar a cabo ensayos clínicos rigurosos. En general, se sigue la estrategia de adaptar el tratamiento al riesgo del paciente. A efectos terapéuticos, se distingue la enfermedad localizada de la generalizada[29-37].

Cuando se trata de una lesión ósea localizada y fácilmente accesible debe procederse quirúrgicamente, realizando un «legrado» de la misma. La radioterapia suele ser curativa en lesiones óseas unifocales o multifocales no abordables mediante cirugía o en lesiones recidivantes tras su tratamiento quirúrgico. La dosis de radioterapia localizada varía de 800 a 1.200 cGy, administrada en fracciones diarias de 200 cGy. Dosis totales inferiores, del orden de 450 a 600 cGy, pueden conseguir la remisión de lesiones pequeñas, mientras que para las lesiones grandes pueden necesitarse dosis superiores, de 1.500 a 2.000 cGy. También son candidatos a ser tratados con radioterapia los enfermos que presentan trastornos funcionales de determinados órganos debidos a infiltración por la enfermedad, como es el caso de fracturas patológicas, de pérdida de la agudeza visual secundaria a la afección retroorbitaria y de aplastamiento vertebral con lesión de la médula espinal. La radioterapia también puede ser útil en la afección de encías y mandíbulas causante de pérdida de piezas dentarias, así como en la diabetes insípida (irradiación hipotálamo-hipofisaria). La indicación de esta última es controvertida por las secuelas de la radioterapia a largo plazo, como la disfunción endocrina y las neoplasias secundarias.

El tratamiento de la enfermedad sistémica (multifocal o diseminada) consiste en quimioterapia. Se ha demostrado la eficacia de gran número de agentes, entre los que se hallan la vinblastina, la vincristina, la ciclofosfamida, el clorambucilo, la procarbacina, el metotrexato, la 6-mercaptopurina, la daunorubicina y el etopósido. Pueden administrarse aislados o en combinación y asociados con glucocorticoides o no. La tasa de respuestas a los diversos agentes quimioterápicos oscila alrededor del 60-70%. La falta de respuesta a uno o más agentes no excluye la respuesta frente a otros. La poliquimioterapia no es superior a la monoterapia en el tratamiento de dicha enfermedad. Pueden observarse recaídas en el 20-40% de casos. En las formas con disfunción grave de órganos la mortalidad es superior al 35%.

La quimioterapia está indicada especialmente en niños con menos de 2 años de edad, debido al elevado riesgo que presentan de diseminación de la enfermedad. En el protocolo LCH-III de la International Histiocyte Society se distinguen tres grupos de pacientes. Grupo 1: pacientes de «riesgo alto» multisistémico con afección de uno o más órganos de riesgo; grupo 2: pacientes de «bajo riesgo» multisistémico, con afección de varios órganos pero sin afección de órganos de riesgo; grupo 3: pacientes con afección ósea multifocal y pacientes con localizaciones «especiales», como el sistema nervioso central (SNC). El tratamiento inicial consiste en la administración de dos ciclos de vinblastina (6 mg/m^2/semana) durante 6 semanas y prednisona (40 mg/m^2/día) durante 4 semanas, con o sin metotrexato (500 mg/m^2 en infusión de 24 horas con rescate con ácido folínico). El tratamiento de mantenimiento consiste en la administración de 6-mercaptopurina en dosis de 50 mg/m^2/día durante 12 meses, vinblastina en dosis de 6 mg/m^2 cada tres semanas y prednisona en dosis de 40 mg/m^2/día con o sin metotrexato (20 mg/m^2 a la semana por vía oral) durante 6-12 meses. En el actual protocolo de la International Histiocyte Society la adición del metotrexato al esquema vinblastina-prednisona tiene por objetivo ver si mejoran los resultados obtenidos hasta el momento. La segunda cuestión que se quiere responder con dicho protocolo es si el tratamiento de mantenimiento de 6 a 12 meses reduce el riesgo de recidivas y mejora los resultados.

También puede utilizarse etopósido (VP_{16}) en dosis de 100 a 150 mg/m^2/día durante 3 días cada 3-4 semanas. Parece tener actividad en esta enfermedad, pero no se ha demostrado un beneficio terapéutico con respecto a la respuesta, supervivencia o frecuencia de reactivaciones, ni en monoterapia ni en combinación con vinblastina. Además, se han descrito varios casos de HCL tratados con dicho fármaco que han presentado posteriormente una leucemia aguda secundaria. La procarbacina y los agentes alquilantes como el clorambucilo no son recomendables, debido a su potencial efecto inductor de segundas neoplasias.

Conviene recordar que el principio básico del tratamiento sistémico consiste en comenzar con el agente terapéutico más «benigno» y, posteriormente, añadir otros agentes más tóxicos en caso de falta de respuesta. El hecho de que existan remisiones espontáneas hace que deba actuarse con mucha prudencia antes de indicar la opción terapéutica que se crea más adecuada, aunque la actitud expectante esté contraindicada ante la progresión de las lesiones. Con todo, la quimioterapia tampoco es, en muchos casos, la solución definitiva, puesto que si

bien mejora el pronóstico y la supervivencia de algunos niños, muchos de ellos fallecen a consecuencia de la enfermedad.

Por ello, se han introducido otras modalidades terapéuticas entre las que se incluyen la 2-clorodesoxiadenosina, sola o combinada con arabinósido de citosina, la desoxicoformicina y el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, la inmunomodulación con ciclosporina y el tratamiento con anticuerpos monoclonales anti-CD1a.

SÍNDROMES HEMOFAGOCÍTICOS

Síndrome hemofagocítico reactivo

Se trata de un proceso caracterizado por una proliferación de histiocitos, morfológicamente de aspecto normal, con una intensa actividad fagocítica de células hematopoyéticas[38-43]. Puede aparecer durante el curso de numerosas enfermedades (tabla 29.4) como infecciones, linfomas, carcinomas, síndromes mielodisplásicos, lupus eritematoso sistémico (LES) y en enfermos en tratamiento inmunodepresor. También hay casos en los que no se encuentra ninguna enfermedad subyacente (histiocitosis hemofagocítica primaria). Se observa con mayor frecuencia en adultos, y la relación varón/mujer es de 1,5 a 2:1. Existe una histiocitosis reactiva de base hereditaria que es la forma hemofagocítica del síndrome linfoproliferativo ligado al cromosoma X (síndrome de Purtilo). Este síndrome se caracteriza por una inmunodeficiencia heredada específica frente a las infecciones por el virus de Epstein-Barr (VEB). Al producirse la citada infección, algunos de estos pacientes presentan una intensa histiocitosis hemofagocítica reactiva.

TABLA 29.4

Enfermedades asociadas con el síndrome hemofagocítico reactivo

Infecciones
Virales (Epstein-Barr, citomegalovirus, herpes simple, varicela zoster, herpesvirus 6, adenovirus, rubéola, parainfluenza, VIH, arbovirus, parvovirus)
Bacterianas (micobacterias, *Brucella*, neumococos, estafilococos, *Haemophilus, Serratia*, micoplasma, *Legionella, Salmonella typhi*, bacilos entéricos gramnegativos)
Hongos (*Candida*, histoplasma, criptococos)
Parásitos (*Leishmania*, babesia, toxoplasma, *Plasmodium*, esquistosoma)
Otros (*Rickettsia, Coxiella, Chlamydia*, treponema)

Neoplasias
Enfermedad de Hodgkin
Linfomas no hodgkinianos (habitualmente, de tipo T periféricos, ocasionalmente B, angiocéntricos y Ki-1 anaplásico)
Leucemia aguda (linfoblástica y no linfoblástica)
Leucemias crónicas (leucemia linfática crónica, tricoleucemia)
Síndromes mielodisplásicos
Mieloma múltiple
Carcinoma (estómago, mama, ovario, pulmón, vejiga urinaria, nasofaringe)
Tumor de células germinales

Varias
Fármacos (fenitoína, berilio, circonio)
Enfermedad de Kawasaki
Síndrome de Chediak-Higashi
Lupus eritematoso sistémico (síndrome hemofagocítico lúpico agudo)
Tratamiento inmunodepresor
Posvacunación
Sarcoidosis

Tomada de Wong KF, Chan JKC, con modificaciones. Hemophagocytic disorders. A review. Hematol Rev 1991; 5:5-37.

Desde el punto de vista clínico, se manifiesta por fiebre, citopenias, hepatoesplenomegalia, adenopatías, trastornos funcionales hepáticos y alteraciones de la coagulación (CID clínica y biológica). Las citopenias son de grado variable y, frecuentemente, de inicio agudo. Suelen hallarse cifras de plaquetas inferiores a 50×10^9/L, y de leucocitos por debajo de 2×10^9/L, junto con una anemia más o menos intensa. A menudo se halla aumento de la bilirrubina indirecta y de la LDH sérica, que traducen una hemólisis intramedular.

Desde el punto de vista citohistológico, el proceso se caracteriza por la proliferación de histiocitos de aspecto benigno, los cuales fagocitan hematíes, eritroblastos, leucocitos, plaquetas y restos nucleares (fig. 29.7). En ocasiones, su tamaño es enorme, debido a la gran cantidad de células hematopoyéticas ingeridas. La médula ósea es el principal lugar de afección del síndrome hemofagocítico reactivo (SHR). Puede ser normocelular, hipocelular o hipercelular, y en ella, además de la gran cantidad de histiocitos con hemofagocitosis, suele observarse la presencia de algunos rasgos displásicos en las células hematopoyéticas, sobre todo de la serie eritroblástica (megaloblastosis, cariorrexis), una ligera plasmocitosis y, ocasionalmente, la presencia de linfocitos estimulados que pueden confundirse con histiocitos malignos. Los histiocitos reactivos con hemofagocitosis también se encuentran en otros órganos, como los ganglios linfáticos, el hígado y el bazo, localizándose en los sinusoides. La distinción morfológica entre el SHR y las histiocitosis malignas a veces es difícil, pero en el primero, los histiocitos nunca presentan características de malignidad (tabla 29.5).

Patogenia

En la patogenia de esta enfermedad participan una alteración de la citotoxicidad celular (la actividad *natural killer* se halla

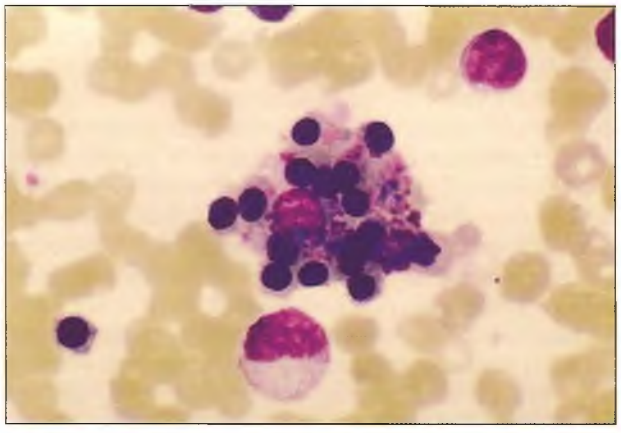


Figura 29.7. Fagocitosis de varios eritroblastos por parte de un histiocito en una histiocitosis hemofagocítica reactiva (MGG, ×1.000).

TABLA 29.5

Características clinicocitológicas del síndrome hemofagocítico reactivo y de las histiocitosis malignas

Síndrome histiocítico	SHR	HM
Clínica	Fiebre Hepatoesplenomegalia Adenopatías Citopenias	Fiebre Hepatoesplenomegalia Adenopatías Lesiones cutáneas Citopenias
Asociación a otros procesos neoplásicos	Sí	No
Órganos inicialmente afectados	Médula ósea	Médula ósea Sangre periférica
Citología	Histiocitosis de aspecto benigno	Histiocitosis de aspecto maligno
Hemofagocitosis	Muy intensa	Escasa y sólo en los histiocitos «maduros»
Diagnóstico diferencial	HM	SHR Linfoma Ki-anaplásico Linfomas T periféricos
Evolución	Desaparece con la curación	Rápidamente progresiva de la enfermedad de base

HM: histiocitosis malignas; SHR: síndrome hemofagocítico reactivo.

disminuida), la activación linfocitaria T colaboradora y la hiperproducción de citocinas (sobre todo IFN-γ, IL-1, 2 y 8, TNF-α y M-CSF, entre otras).

Las citopenias son debidas, en parte, a la ingestión y destrucción de las células hematopoyéticas por los histiocitos. Al parecer, un factor inductor de la fagocitosis o bien linfocinas estimuladoras de los macrófagos producirían la activación sistémica de los histiocitos. Por tanto, el SHR puede considerarse como una reacción inmunológica desmesurada en huéspedes susceptibles, lo que daría lugar a la proliferación histiocitaria.

Diagnóstico diferencial

Debe efectuarse sobre todo con la histiocitosis hemofagocítica familiar, ya que comparten muchas de las características clinicobiológicas. La distinción con las histiocitosis malignas se describe en la tabla 29.6.

Cabe también tener en cuenta que la presencia de histiocitos con hemofagocitosis (principalmente de hematíes) puede observarse en otros procesos, como la anemia hemolítica autoinmune, la drepanocitosis, la toxicidad por fármacos e incluso, ocasionalmente, en sujetos normales. Por tanto, la presencia de un pequeño número de histiocitos con hemofagocitosis no es suficiente para efectuar el diagnóstico de SHR. Para ello se exige que un mínimo del 2% de todas las células nucleadas medulares sean histiocitos con hemofagocitosis, junto con la presencia de fiebre y citopenias de, por lo menos, dos líneas celulares.

Pronóstico

El cuadro clínico puede ser grave, y en los casos secundarios a infecciones virales la mortalidad puede alcanzar el 30 a 40%, sobre todo en niños de edad inferior a 3 años. Los casos secundarios a infección bacteriana suelen evolucionar favorablemente con el tratamiento de la infección. En los casos asociados con neoplasia la evolución depende del tipo de neoplasia, de la respuesta al tratamiento y del hecho de que la histiocitosis hemofagocítica esté desencadenada o no por una infección intercurrente.

Tratamiento

No existe un tratamiento específico del síndrome. Éste debe ir dirigido al de la enfermedad de base. Así, procede administrar antibióticos en los casos asociados con infecciones bacterianas; aciclovir, en ciertas infecciones virales, y soporte transfusional ante citopenias intensas. Si el enfermo recibe inmunodepresores, debe reducirse su dosis o suprimir su administración temporalmente. El tratamiento con citostáticos puede propiciar una evolución letal, aunque en algunos casos graves o resistentes al tratamiento de la enfermedad de base se ha observado respuesta con el tratamiento mediante etopósido y glucocorticoides. Algunos pacientes pueden necesitar inicialmente un tratamiento inmunosupresor similar al de la linfohistiocitosis hemofagocítica familiar y, posteriormente, deberá adaptarse en función del proceso causal subyacente. Así, la ciclosporina A, que suprime selectivamente la función de los linfocitos T e inhibe la producción de linfocinas, se mostró eficaz en algún caso. También se han observado respuestas con la administración de inmunoglobulinas intravenosas. En los pacientes en los que tras el adecuado tratamiento se logra curar o remitir la enfermedad de base, el SHR desaparece al cabo de unos días o semanas de su presentación.

Linfohistiocitosis hemofagocítica familiar (LHF)

Se trata de una enfermedad rara de la infancia, rápidamente fatal y caracterizada por fiebre, afección del estado general, hepatoesplenomegalia, adenopatías, trastornos neurológicos, pancitopenia y alteraciones funcionales hepáticas (aumento de la bilirrubina y de las transaminasas). También cursa con alteraciones características de la coagulación (disminución del fibrinógeno sin evidencia de CID), del metabolismo lipídico (hiperlipemia) y férrico (hiperferritinemia). En el líquido

TABLA 29.6

Principales histiocitosis acumulativas

Enfermedad	Déficit enzimático	Principales metabolitos acumulados	Manifestaciones clínicas	Tratamiento
Glucogenosis				
Tipo I	Glucosa-6-fosfatasa	Glucógeno Triglicéridos	Hipoglucemia Hepatomegalia Acidosis láctica	Dietético Trasplante hepático
Tipo II (enfermedad de Pompe)	α-1-4-glucosidasa	Glucógeno	Cardiomegalia	Trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH)
Tipo III	Amilo-1-6-glucosidasa	Glucógeno	Hepatomegalia Miopatía	
Tipo IV	Amilo(1,4 → 6)-transglucosidasa	Glucógeno	Hepatomegalia Cirrosis hepática	
Tipo VI	Fosforilasa hepática	Glucógeno	Hepatomegalia	
Esfingolipidosis				
GM1-gangliosidosis: tipo 1-infantil	GM1 gangliósido-β-galactosidasa	Gangliósido GM1, oligosacáridos que continen galactosa	Alteraciones neurológicas graves, manchas retinianas de color rojo cereza	
Tipo 2-juvenil	GM1 gangliósido-β-galactosidasa	Gangliósido GM1 oligosacáridos que contienen galactosa	Alteraciones neurológicas más moderadas	
GM2-gangliosidosis: enfermedad de Tay-Sachs	Hexosaminidasa A	Gangliósido GM2	Alteraciones neurológicas graves (degeneración espinocerebelosa, enfermedad neurona motora, psicosis)	
Enfermedad de Sandhoff	Hexosaminidasa A y B	Gangliósido GM2 Globósido GA2	Alteraciones visuales por degeneración macular	
Sulfatidosis Leucodistrofia metacromática	Arilsulfatasa A	Sulfátido	Paraplejía espástica Deterioro mental grave Desmielinización nervios periféricos	
Enfermedad de Krabbe	Galactocerebrosidasa	Galactocerebrósido	Convulsiones Deterioro mental	
Enfermedad de Fabry	α-galactosidasa	Ceramidotrihexósido	Petequias Angioqueratoma Crisis de dolor en manos y pies, insuficiencia renal	TPH
Enfermedad de Gaucher				
Forma infantil	β-glucocerebrosidasa total	Glucocerebrósido	Esplenomegalia Trastornos neurológicos	TPH
Forma adulta	β-glucocerebrosidasa unida	Glucocerebrósido	Dolores y deformaciones óseas enzimática	Restitución
Enfermedad de Niemann-Pick	Esfingomielinasa	Esfingomielina	Hepatoesplenomegalia Trastornos neurológicos	TPH
Enfermedad de Farber	Ceramidasa	Ceramida	Nódulos subcutáneos Artropatía Trastornos neurológicos	TPH
Mucopolisacaridosis				
Síndrome de Hurler	α-iduronidasa	Dermatán sulfato	Rinitis Cifosis Opacificación corneal Hernia inguinal y umbilical Macrocefalia	

TABLA 29.6

Principales histiocitosis acumulativas (*Cont.*)

Enfermedad	Déficit enzimático	Principales metabolitos acumulados	Manifestaciones clínicas	Tratamiento
			Dificultad en el aprendizaje Manos en garra y dedos cortos Piel gruesa Dismorfia facial Infecciones frecuentes Trastornos neurológicos	
Síndrome de Hunter	Iduronato sulfatasa	Dermatán sulfato	Manifestaciones clínicas más moderadas que en síndrome de Hurler	
Síndrome de Sanfilippo				
Tipo A	Heparán N-sulfatasa	Heparán sulfato	Displasia ósea	
Tipo B	α-N-acetilglucosaminidasa	Heparán sulfato	Predominan los trastornos neurológicos	
Tipo C	Acetil CoA: α-glucosamínido-N-acetil-transferasa	Heparán sulfato		
Tipo D	α-N-acetilglucosamínido-N-acetil-transferasa	Heparán sulfato 6-sulfatasa		
Síndrome de Morquio	Galactosamina-6-sulfatasa	Keratán sulfato	Predomina la displasia ósea	
Síndrome de Maroteaux-Lamy	Arilsulfatasa B	Dermatán sulfato	Displasia ósea	
Síndrome de Sly	β-glucuronidasa	Dermatán sulfato Heparán sulfato	Displasia ósea Hepatoesplenomegalia Retraso mental Inclusiones leucocitarias	
Mucolipidosis				
Mucolipidosis II (síndrome de seudo-Hurler)	N-acetilglucosaminil-fosfotransferasa Déficit celular de muchas enzimas lisosómicas y aumento extracelular (plasmático) de las mismas	Mucopolisacárido Glucolípido	Hepatoesplenomegalia Dismorfia facial	TPH
Mucolipidosis III	N-acetilglucosaminil-fosfotransferasa	Mucopolisacárido Glucolípido	Clínica más moderada que en el tipo II	
Mucolipidosis IV	Desconocido	Desconocido	Clínica más moderada que en el tipo II	
Otras enfermedades acumulativas				
Enfermedad de Wolman	Lipasa ácida	Ésteres de colesterol triglicéridos	Diarrea Hepatoesplenomegalia	TPH
Déficit de fosfatasa ácida	Fosfatasa ácida lisosómica	Ésteres de fosfato		
Enfermedad de Salla	Fallo en el mecanismo de transporte de la membrana	Ácido acetilneuramínico	Retraso mental y del esqueleto	

HM: histiocitosis malignas; SHR: síndrome hemofagocítico reactivo.

cefalorraquídeo (LCR) se detecta hiperproteinorraquia y pleocitosis a base de linfocitos y algunos monocitos. La edad de los niños afectados oscila entre 2 semanas y 7 años, y los dos tercios de ellos son diagnosticados dentro de los tres primeros meses de vida. La supervivencia es muy corta, del orden de algunas semanas o meses desde el diagnóstico, y los pacientes fallecen por hemorragias, sepsis o afección del SNC. La presentación del proceso en hermanos, primos, así como la existencia de consanguinidad en los padres apoya el carácter hereditario autosómico recesivo del proceso[44,45].

Desde el punto de vista anatomopatológico, el cuadro se caracteriza por una infiltración por histiocitos y linfocitos, que puede localizarse en cualquier órgano, especialmente en médula ósea, ganglios linfáticos, bazo, hígado, cerebro o pulmones. Se trata de histiocitos morfológicamente normales, que presentan hemofagocitosis, en especial eritrofagocitosis. La médula ósea es hipercelular, con hiperplasia eritroblástica, disminución de la serie granulopoyética y una proliferación histiocitaria, junto con la existencia de células linfoides estimuladas. En los ganglios linfáticos suele observarse una depleción linfoide con escasez de centros germinales; en el bazo hay atrofia de la pulpa blanca e infiltración linfohistiocitaria, localizada preferentemente en la pulpa roja, mientras que en el hígado ésta se halla en los espacios porta y los sinusoides. En el cerebro, los infiltrados se encuentran en las meninges y en los espacios perivasculares intraparenquimatosos.

El diagnóstico es difícil. De acuerdo con la Histiocyte Society se requieren al menos cinco criterios: fiebre, citopenias (de dos o de las tres series hematopoyéticas), esplenomegalia, hipertrigliceridemia o hipofibrinogenemia y hemofagocitosis. Recientemente, se han añadido criterios secundarios, como la disminución o ausencia de actividad NK, valor de ferritina > 500 µg/L y valor de CD25 soluble > 2.400 U/mL, que apoyan el diagnóstico, siendo este último el marcador con mayor sensiblidad (93%). La existencia de antecedentes familiares puede ser de gran ayuda para el diagnóstico, aunque al ser la herencia autosómica recesiva, no siempre existen. El diagnóstico diferencial es, a veces, difícil y debe efectuarse sobre todo con las histiocitosis hemofagocíticas secundarias, tanto a infecciones como a neoplasias. Esta diferenciación es esencial por las implicaciones terapéuticas que ello conlleva.

La causa de la enfermedad se desconoce. En estos pacientes se han hallado diversos trastornos inmunológicos, tanto de la inmunidad celular como de la humoral, sin que se sepa si son secundarios al cuadro o si se trata de una inmunodeficiencia primaria. Dichos trastornos incluyen una alteración de la respuesta linfocitaria frente a mitógenos, de la oxidación de la glucosa en los fagocitos, de la función de los linfocitos B y de la citotoxicidad, así como un déficit de actividad *natural killer* y de linfocinas, y una disminución de la IgA.

Sin tratamiento, el curso es rápidamente fatal en 2 a 3 meses. El tratamiento consiste en la administración de quimioterapia (etopósido y glucocorticoides, junto con metotrexato intratecal), en general asociada con tratamiento inmunomodulador (ciclosporina A). Con ello se logran respuestas en más de dos terceras partes de los enfermos, lo que se asocia con una prolongación significativa de la supervivencia. El nuevo protocolo de la Histiocyte Society (HLH-04) pretende mejorar los resultados del anterior protocolo (HLH-94) con una administración más precoz de la ciclosporina, con el objetivo principal de evitar las progresiones tempranas de la enfermedad. Sin embargo, el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, efectuado con preferencia después de lograr una respuesta con la quimioterapia y la inmunoterapia, es la única opción curativa para estos enfermos[46,47].

SÍNDROMES HISTIOCÍTICOS MALIGNOS

Histiocitosis maligna (sarcoma histiocítico)

El término histiocitosis maligna (HM) fue acuñado por Rappaport para definir una enfermedad sistémica, maligna, caracterizada por la proliferación de histiocitos y de sus precursores[48-51]. Con este término se conoce en la actualidad la proliferación maligna de células que presentan características morfológicas e inmunofenotípicas similares a las de los histiocitos maduros de los tejidos. Constituyen un grupo de enfermedades en las que ha habido una gran confusión conceptual y semántica. De hecho, en la clasificación moderna de las histiocitosis se prefiere el término de sarcoma histiocítico al de histiocitosis maligna.

La HM es un proceso muy infrecuente, que puede darse a cualquier edad y sin predominio sexual. Clínicamente, se manifiesta por fiebre, mal estado general, adenopatías y hepatoesplenomegalia. También pueden aparecer trastornos respiratorios, alteraciones neurológicas o nódulos cutáneos. En las exploraciones analíticas se detecta pancitopenia, aumento de la velocidad de sedimentación globular (VSG), aumento de las globulinas, bilirrubina, lisozima y LDH séricas, así como alteración de las pruebas funcionales hepáticas. El curso de la enfermedad es a menudo rápidamente progresivo, a veces fulminante, con aparición de derrame pleural, ictericia, púrpura e intensa pancitopenia y una supervivencia mediana inferior a 9 meses, aunque hay casos que siguen un curso más indolente. Cuando la presentación inicial es en forma de una esplenomegalia o de lesiones cutáneas aisladas, el curso es más prolongado. Otros casos de HM se han observado después de tratamientos inmunodepresores por neoplasias hematológicas o cuadros inmunológicos como artritis reumatoide o lupus eritematoso.

En la sangre periférica, además de las citopenias, pueden observarse histiocitos atípicos circulantes con núcleo ovalado, cromatina tosca, varios nucléolos de gran tamaño y citoplasma abundante con seudópodos y vacuolas. Estos histiocitos atípicos pueden observarse con mayor facilidad en los leucoconcentrados. En la médula ósea se halla una infiltración por histiocitos de intensidad muy variable, los cuales se encuentran habitualmente en diferentes estadios de diferenciación. Los más indiferenciados son grandes y poseen un núcleo oval, varios nucléolos y citoplasma basófilo, y con pequeños seudópodos. Los más diferenciados son indistinguibles de los histiocitos maduros normales (fig. 29.8). El patrón infiltrativo es de tipo intersticial, no cohesivo, lo que permite que la médula ósea conserve su arquitectura. En la HM también se afectan los ganglios linfáticos (sinusoides), el bazo (principalmente, la pulpa roja) y el hígado (espacios porta y sinusoides), los cuales se hallan infiltrados por histiocitos atípicos y por algunos con actividad fagocítica. Sin embargo, la enfermedad puede afectar a cualquier órgano, incluyendo pulmones, cerebro, intestino, piel, riñones y testículos. En todos ellos los histiocitos atípicos se hallan dispersos más que formando zonas infiltrativas compactas.

Aunque Bryne y Rappaport resaltaron la importancia de identificar histiocitos atípicos con hemofagocitosis, en estudios posteriores se ha visto que este hecho no es necesario para el diagnóstico del proceso. En contraste con el síndrome hemofagocítico reactivo, la fagocitosis en la HM es un fenómeno poco llamativo, y se observa habitualmente sólo en los histiocitos «maduros» reactivos.

Inicialmente, los criterios diagnósticos de la HM fueron sólo morfológicos, pero después se han empleado, además de la morfología, técnicas de citoquímica, inmunohistoquímica, microscopia electrónica y biología molecular, para asegurar la naturaleza «histiocítica» del proceso. Así, mediante estudios inmunofenotípicos y de reordenamiento gé-

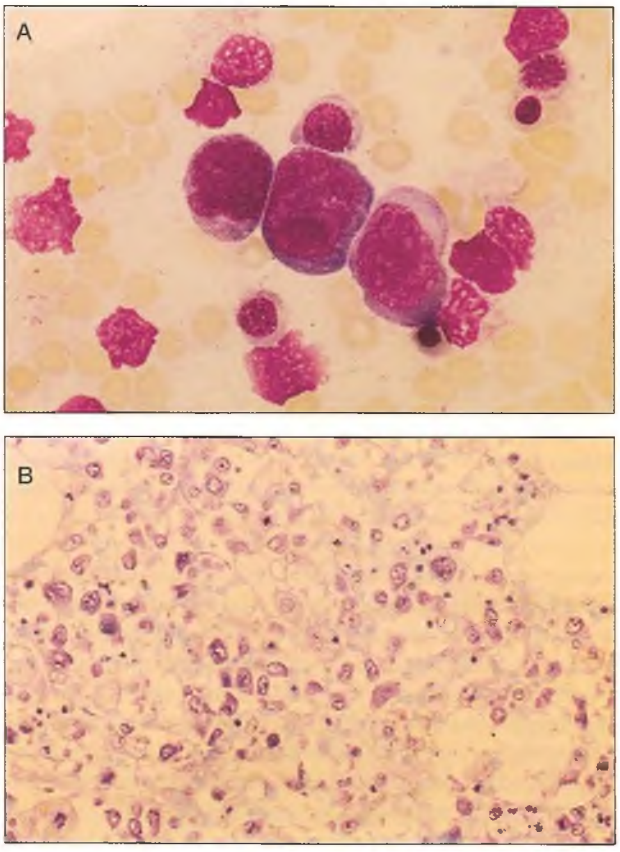


Figura 29.8. A y B. Médula ósea en un caso de histiocitosis maligna. A: aspirado medular. En el centro se aprecian tres histiocitos atípicos (MGG, ×1.000). B: biopsia de médula ósea. El intersticio medular se halla infiltrado por células de diversos tamaños, contorno irregular del núcleo y cromatina inmadura y laxa con nucléolos de gran tamaño. Dichas células eran positivas al marcaje con el anticuerpo monoclonal EBM 11 y con la lisozima (HE, ×400).

nico se ha visto que muchos casos descritos como HM eran linfomas anaplásicos de células grandes Ki-1 positivos, linfomas T periféricos (incluyendo el linfoma T gamma-eritrofagocítico) y otros tipos de linfoma no hodgkiniano, con hemofagocitosis reactiva o sin ella. Citoquímicamente los histiocitos tienen positividad intensa para la fosfatasa ácida y las esterasas inespecíficas. Sin embargo, dicha positividad también puede observarse en linfocitos B o T activados, en linfomas no histiocíticos, en la tricoleucemia e incluso en neoplasias epiteliales. Por otra parte, en la HM, la positividad para estas tinciones citoquímicas puede darse únicamente en los histiocitos reactivos y no en los neoplásicos.

En los estudios inmunocitoquímicos e inmunohistoquímicos de las células neoplásicas cabe destacar la positividad del CD68, de la lisozima, del CD11c y CD14, que, junto con la ausencia de expresión de marcadores mieloides, apoya la naturaleza histiocítica de la proliferación celular. La inmunotinción con la proteína S-100 proporciona resultados discordantes. El CD45, CD45RO y el HLA-DR son también positivos, mientras que los marcadores linfoides B y T son negativos. Para el diagnóstico también se requiere demostrar la ausencia de reordenamientos de los genes de las inmunoglobulinas y del receptor de células T.

La diferenciación más difícil se da con los linfomas anaplásicos Ki-1 positivos de células grandes. Los histiocitos neoplásicos no suelen expresar el CD30 y tampoco presentan la t(2;5) o su correspondiente gen de fusión *NPM/ALK*. También debe efectuarse el diagnóstico diferencial con las histiocitosis reactivas, sobre todo con las secundarias a virus, que pueden tener un curso fulminante (en las que los histiocitos no son atípicos y con acusada hemofagocitosis), la enfermedad de Hodgkin y las HCL con disfunción de órganos.

La evolución de la enfermedad es rápidamente progresiva y, sin tratamiento, el enfermo fallece en un plazo de 2 a 6 meses. El pronóstico depende del grado de infiltración y de disfunción orgánica, en particular de la médula ósea, el hígado y los pulmones.

El tratamiento es difícil de generalizar, dada la enorme rareza de estas neoplasias. En la mayoría de casos se han empleado pautas de quimioterapia similares a las empleadas en los linfomas de alto grado de malignidad, como la combinación de ciclofosfamida, adriamicina, vincristina y prednisona (CHOP), con adición de bleomicina en algunos casos. Otros autores han utilizado pautas que incluyen, además de los anteriores fármacos, etopósido y arabinósido de citosina. Algunos autores recomiendan efectuar profilaxis del SNC. El tratamiento de mantenimiento no parece ser útil. Con estos tratamientos se consigue un alto porcentaje de remisiones completas con supervivencias prolongadas. En los raros casos en los que la enfermedad está localizada, la escisión quirúrgica es el tratamiento de elección.

HISTIOCITOSIS ACUMULATIVAS

Las histiocitosis acumulativas se deben a un déficit específico de una enzima contenida en los lisosomas[52,53]. Se denominan lisosomas los orgánulos citoplásmicos compuestos por una membrana y un contenido de hidrolasas-fosfatasas ácidas. La falta de actividad o ausencia de las hidrolasas en el lisosoma ocasiona la acumulación de sustratos, como el glucógeno, los mucopolisacáridos o los esfingolípidos, al no poder ser escindidos. Los citados sustratos acumulan en los lisosomas, que aumentan progresivamente de tamaño y se alteran sus funciones, lo que repercute sobre el funcionalismo celular. Según el tipo de anormalidad enzimática y de sustratos acumulados se producirá uno u otro tipo de trastornos en determinados órganos y tejidos.

En las histiocitosis acumulativas se afecta principalmente el sistema mononuclear fagocítico, por lo que los histiocitos serán las células en las que se manifieste el trastorno metabólico enzimático. El examen citohistológico de los órganos hematopoyéticos es un método simple y rápido para establecer el diagnóstico genérico de una histiocitosis acumulativa, aunque únicamente la identificación de la enzima deficitaria o el análisis químico del sustrato acumulado resultan válidos para establecer el diagnóstico definitivo.

En la tabla 29.6 se describen las principales histiocitosis acumulativas. Todas ellas pueden cursar con la presencia de histiocitos tesaurismóticos en los órganos hematopoyéticos. Por su mayor frecuencia en la práctica clínica, se describen con detalle las enfermedades de Gaucher y de Niemann-Pick y el síndrome del histiocito azul marino.

El trasplante de progenitores hematopoyéticos, la administración de la enzima deficitaria y los procedimientos de ingeniería genética son las principales armas terapéuticas de que se dispone en la actualidad.

Enfermedad de Gaucher

Se trata de una enfermedad autosómica recesiva producida por un déficit de glucocerebrosidasa (glucosilceramidasa), enzima que interviene en la degradación lisosómica de los glucolípidos. En ausencia de dicha enzima se produce una acumulación secundaria de glucocerebrósidos insolubles (glucosilceramida) en los lisosomas de los macrófagos. El gen de la glucocerebrosidasa se localiza en la región q21 del cromosoma 1. Aunque la enfermedad de Gaucher es más frecuente en la población judía de origen ashkenazi, afecta a sujetos de todas las razas[54-59].

Clínicamente, se conocen tres subtipos de enfermedad de Gaucher: el tipo 1, que representa el 99% de casos y cursa sin trastornos neurológicos; el tipo 2, que cursa con manifestaciones neurológicas graves y que produce la muerte en los primeros 2 años de vida, y el tipo 3 o forma juvenil de la enfermedad, que se caracteriza por un inicio tardío de los síntomas neurológicos y cuyo curso es prolongado.

Aunque el déficit de glucocerebrosidasa se produce en todas las células del organismo, los causantes de las manifestaciones clínicas no neurológicas de la enfermedad son los macrófagos cargados de glucolípidos.

El tipo 1 cursa con pocas manifestaciones clínicas o es asintomático; esto hace que el diagnóstico se efectúe en muchos casos en la edad media o avanzada de la vida. La enfermedad cursa con esplenomegalia, a veces de tamaño gigante, causante de la trombocitopenia y anemia que pueden presentar estos pacientes debido a hiperesplenismo, y también con hepatomegalia. La afección ósea también es frecuente, y produce un ensanchamiento en forma de campana de la región distal del fémur, es la denominada deformación en frasco de Erlenmeyer, que constituye un signo clásico de la enfermedad. También son frecuentes la necrosis aséptica de las cabezas femorales, los infartos óseos y las fracturas patológicas de los huesos largos, así como las crisis recurrentes de dolores óseos con signos inflamatorios, en ocasiones acompañados de fiebre, pero sin alteraciones radiológicas. En el laboratorio se halla un aumento de la fosfatasa ácida sérica, y puede hallarse también un aumento de las transaminasas.

En el tipo 2, los síntomas neurológicos aparecen en el primer año de vida, destacando entre ellos la apraxia oculomotora, estrabismo, hipertonía y retroflexión de la cabeza. El tipo 3 cursa con idénticos trastornos neurológicos, pero de aparición más tardía (durante los primeros años de vida).

El diagnóstico de la enfermedad de Gaucher se basa en la identificación de las células espumosas características en la médula ósea, el hígado y el bazo (fig. 29.9). En la sangre periférica el hallazgo de dichas células es excepcional, pero en cambio es habitual el de monocitos que contienen fosfatasa ácida tartrato-resistente. La célula de Gaucher es un histiocito de 20 a 80 µm de diámetro, de núcleo picnótico, excéntrico, único o múltiple, cuyo citoplasma ofrece un aspecto diferente según la cantidad y el estado fisicoquímico del cerebrósido almacenado, adquiriendo en los casos más típicos el aspecto de papel de pergamino o de seda arrugada. Su observación al microscopio electrónico de transmisión es definitiva, ya que se aprecian claramente unas estructuras tubulares muy típicas y numerosas microvellosidades. La característica citoquímica más destacada es su intensa actividad de fosfatasa ácida, parcialmente tartrato-resistente. Las concentraciones séricas de la fosfatasa ácida y de la enzima

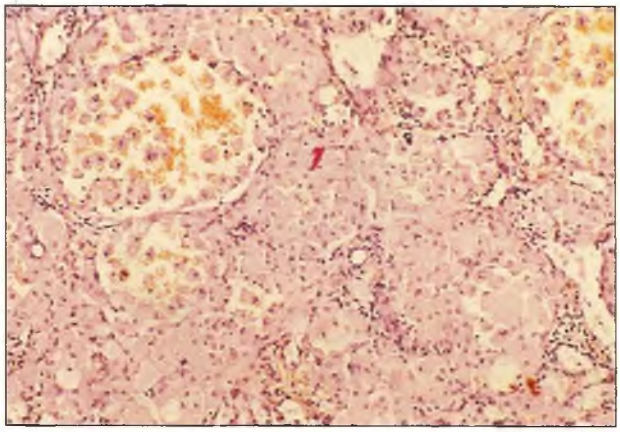


Figura 29.9. Infiltración esplénica por células de Gaucher. Es característico de dichas células el aspecto espumoso de su citoplasma (HE, ×400).

conversora de la angiotensina se hallan aumentadas. La determinación de la actividad de la betaglucosidasa en extractos de granulocitos de sangre periférica es de gran valor diagnóstico (también es posible su determinación en fibroblastos) y también es útil para la identificación de personas heterocigotas para dicha enfermedad. Actualmente, puede efectuarse el diagnóstico prenatal mediante amniocentesis o estudio de las vellosidades coriónicas. Mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa pueden estudiarse las mutaciones comunes de los nucleótidos 84, 1226 y 1448, lo cual es útil tanto desde el punto de vista pronóstico como para el consejo genético. La aplicación de los métodos de estudio genético molecular ha permitido la caracterización de un número elevado de mutaciones (más de 60), lo que determina la mejor identificación de los portadores. La frecuencia alélica en la población española es intermedia entre la de los judíos ashkenazi y el resto de la población no judía. La mutación N370S es la que se identifica con mayor frecuencia, seguida de la L444P.

El pronóstico de la enfermedad de Gaucher es muy variable. En el tipo 2, los pacientes suelen morir a los pocos meses. En cambio, hay pacientes con el tipo 1 en los que el diagnóstico se realiza en la senectud. El genotipo influencia las manifestaciones clínicas de la enfermedad; así, los pacientes con genotipo 1226G/1226G no suelen presentar manifestaciones clínicas o, en caso de presentarlas, éstas son tardías, escasas y de leve intensidad. Es poco frecuente la neuropatía sintomática en los pacientes con la mutación N370, y los homocigotos para esa mutación suelen presentar un curso más indolente. Seguramente, hay factores genéticos que influencian la gravedad de la enfermedad y que todavía se desconocen.

En los pacientes con enfermedad de Gaucher, la incidencia de síndromes linfoproliferativos crónicos está aumentada.

El tratamiento de la enfermedad de Gaucher puede ser sólo sintomático o bien curativo. Actualmente, se dispone de la enzima recombinante imiglucerasa (Cerezyme) que tiene la ventaja sobre la glucocerebrosidasa placentaria purificada (alglucerasa) de evitar el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas. Se administra por vía intravenosa durante varios meses, y produce una notable mejoría en las manifestaciones clínicas y biológicas en los pacientes con el tipo I de la enfermedad. Antes de iniciar dicho tratamiento debe efec-

tuarse una cuidadosa valoración de la relación coste/beneficio, debido a su elevado precio. Así, por ejemplo, en pacientes del tipo I y expresividad clínica leve no se requerirá tratamiento sustitutivo.

La esplenectomía es útil para corregir la trombocitopenia y la anemia, así como para suprimir las molestias abdominales causadas por la esplenomegalia gigante. Sin embargo, su realización acelera probablemente la progresión de la enfermedad en otras localizaciones como el hígado y los huesos. Por ello, se ha propuesto la realización de la esplenectomía parcial, que evitaría este hecho, a la vez que protegería contra la aparición de sepsis fulminantes después de la intervención. Con todo, el papel de la esplenectomía parcial no puede considerarse como totalmente aceptado. También se ha realizado la embolización esplénica.

La enfermedad de Gaucher puede curar mediante el trasplante alogénico de progenitores hemopoyéticos, puesto que los macrófagos, causantes del fenotipo de la enfermedad derivan de la célula madre hematopoyética pluripotencial. Un nuevo procedimiento consiste en el trasplante autogénico de células madre en las que se ha insertado el gen o el DNAc de la glucocerebrosidasa normal (transferencia génica).

Por último, cabe mencionar que, actualmente, la realización de consejo genético a las parejas que han tenido un hijo con una enfermedad de Gaucher es relativamente sencilla. Dicha información es fundamental al decidir la interrupción de un nuevo embarazo[60].

Enfermedad de Niemann-Pick

Es un proceso en el que se produce una acumulación tisular de esfingomielina, principalmente en los histiocitos, debida a un déficit de esfingomielinasa. Su herencia es autosómica recesiva. Clínicamente, cursa con trastornos neurológicos y hepatoesplenomegalia. También puede haber adenopatías, erupción xantomatosa, infiltrados pulmonares difusos y manchas de color rojo-cereza en la retina. Según el grado evolutivo y la presencia o ausencia de afección del SNC, se consideran varias formas de la enfermedad (tipos A, B, C, D). En el tipo A existe afección neurológica desde la primera infancia, mientras que en el tipo B se dan todas las manifestaciones clínicas descritas menos la afección cerebral. En los tipos C y D, además de hepatoesplenomegalia y de la presencia de histiocitos espumosos en médula ósea, hay afección neurológica de comienzo tardío; el tipo D está delimitado a un grupo genético aislado en Nueva Escocia. Los tipos C y D no serían esfingolipidosis en sentido estricto, pues la actividad de la esfingomielinasa puede ser normal, la acumulación de esfingomielina suele ser sólo moderada, y el principal trastorno metabólico consiste en un aumento del colesterol intracelular no esterificado. Los signos clínicos neurológicos que presentan estos pacientes son: paresia de la mirada vertical de tipo supranuclear, ataxia, deterioro intelectual y trastornos extrapiramidales (distonía y coreoatetosis).

Para algunos autores, la enfermedad de Niemann-Pick y el síndrome del histiocito azul marino corresponden al mismo cuadro, e incluso se cuestiona la existencia del segundo, dada la similitud clínica e histológica con el primero. Los pacientes pueden presentar diversos grados de citopenia y la presencia de linfocitos y monocitos vacuolados. Incide sobre todo en niños pequeños, pero también existe una forma del adulto esencialmente visceral.

Las células de Niemann-Pick son de gran tamaño (más de 90 µm de diámetro), con un núcleo excéntrico y un citoplasma abundante y pálido, finamente vacuolado y de aspecto espumoso (*foam cells*). En las secciones teñidas con hematoxilina-eosina algunas células contienen un pigmento amarillo o amarillento-marrón que es material ceroide o su equivalente, la lipofuscina. En la tinción de Giemsa, algunos de los macrófagos pueden contener gránulos en el citoplasma de color azul o azul-verdoso, que les confieren la denominación de histiocitos azul marino. Al MET, las inclusiones lipídicas ofrecen en su periferia una disposición lamelar concéntrica. Dichas células se observan principalmente en el hígado, bazo, ganglios linfáticos, médula ósea, cerebro y, ocasionalmente, en la piel. Su presencia es indicativa de la enfermedad de Niemann-Pick, pero no diagnóstica, puesto que en otras tesaurismosis también pueden verse histiocitos de aspecto espumoso. Para el diagnóstico se requiere la demostración química de la acumulación de esfingomielina o del déficit de la enzima esfingomielinasa.

Desde el punto de vista terapéutico, se han ensayado agentes hipocolesterolemiantes y dietas ricas en pectina para disminuir, respectivamente, los depósitos lipídicos y las concentraciones de esfingomielina. Se ha conseguido la normalización de la actividad de esfingomielinasa en algún enfermo tras el trasplante de médula ósea. Los valores de esfingomielina plasmática se normalizaron durante más de un año, aunque la esplenomegalia y los trastornos neurológicos no se modificaron.

Otras histiocitosis acumulativas

Sus características se especifican en la tabla 29.6.

BIBLIOGRAFÍA

1. Johnston RB Jr. Monocytes and macrophages. N Engl J Med 1988; 318:747-752.
2. Lipton JM. Histiocytic disorders. En: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE et al (eds.) Hematology. Basic principles and practice. 3.ª ed. Nueva York: Churchill Livingstone, 2000; 783-796.
3. Arceci RJ. Histiocytoses ans disorders of the reticuloendothelial system. En: Handin RI, Lux SE, Stossel TP (eds.) Blood: principles & practice of hematology. 2.ª ed. Philadelphia: J.B. Lippincott, 2003; 921-957.
4. Komp DM, Perry MC. The histiocytic syndromes. Semin Oncol 1991; 18:1-62.
5. Wright-Browne V, Mc Clain KL, Talpaz M, Ordóñez N, Estrov Z. Physiology and pathophysiology of dendritic cells. Hum Pathol 1997; 28:563-579.
6. Herbst B, Köhler G, Mac Kensen A et al. In vitro differentiation of CD34+ hematopoietic progenitor cells toward distinct dendritic cell subsets of the Birbeck granule and MIIC-positive Langerhans cell and the interdigitating dendritic cell type. Blood 1996; 88:2541-2548.
7. Favara BE, Feller AC, Pauli M et al. Contemporary classification of histiocytic disorders. The WHO Committee on Histiocytic/Reticulum Cell Proliferations. Reclassification Working Group of the Histiocyte Society. Med Pediatr Oncol 1997; 29:157-166.
8. Woessner S. Histiocitosis de células de Langerhans. Med Clin (Barc) 1989; 93:457-459.
9. Egeler RM, D'Angio GJ (eds.). Langerhans cell histiocytosis. Hematol Oncol Clin North Am 1998; 12:213-477.
10. Ladish S. Langerhans cell histiocytosis. Curr Opin Hematol 1998; 5: 54-58.
11. Osband ME, Pochedly C. Histiocytosis X. Hemat Oncol Clin North Am. Filadelfia: W.B. Saunders Company, 1987.

CAPÍTULO 30

Gammapatías monoclonales. Clasificación. Métodos de detección. Gammapatía monoclonal de significado incierto. Amiloidosis primaria

C. Besses y J. Sans-Sabrafen

ÍNDICE

Introducción
Métodos de detección de las gammapatías monoclonales
Gammapatía monoclonal de significado incierto
Asociación de las gammapatías monoclonales con otras enfermedades
Amiloidosis primaria
Patogenia
Manifestaciones clínicas
Pruebas de laboratorio
Diagnóstico y diagnóstico diferencial
Pronóstico
Tratamiento
Bibliografía

INTRODUCCIÓN

Las gammapatías monoclonales representan un grupo de diversos trastornos caracterizados por la proliferación de una clona de células plasmáticas que tiene capacidad de producir una inmunoglobulina o un fragmento de ella, que puede detectarse en sangre y/u orina en forma de una banda de carácter homogéneo o componente monoclonal (M).

El término paraproteína no es adecuado, pues presupone que las inmunoglobulinas son anómalas estructural y funcionalmente respecto a las inmunoglobulinas normales con comportamiento de anticuerpo. Ello no es exactamente así, ya que muchas proteínas monoclonales poseen actividad de anticuerpo frente a aloantígenos o incluso reaccionan con antígenos propios. Así pues, el término correcto para referirse a una inmunoglobulina monoclonal es proteína monoclonal. La tabla 30.1 muestra la clasificación actual de las gammapatías monoclonales. En el presente capítulo se expondrán los métodos de laboratorio utilizados para su detección, describiendo a continuación la gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI) y la amiloidosis primaria mediada por cadenas ligeras. En el Capítulo 31 se describe el mieloma múltiple, y en el Capítulo 32, la macroglobulinemia de Waldenström, las enfermedades de las cadenas pesadas y las crioglobulinemias monoclonales.

MÉTODOS DE DETECCIÓN DE LAS GAMMAPATÍAS MONOCLONALES

El incremento en la producción de inmunoglobulinas se traduce en el proteinograma como un aumento en la zona γ (catódica), en forma de base ancha, difusa y de lomo romo. Representa una expansión fisiológica de diversas clonas de linfocitos o células plasmáticas, cada una de las cuales produce un tipo determinado de inmunoglobulina, configurando por su heterogeneidad, lo que se denomina banda o hiperglobulinemia policlonal (fig. 30.1). Ésta es la situación

TABLA 30.1

Clasificación de las gammapatías monoclonales

- Gammapatía monoclonal de significado incierto
- Mieloma múltiple
  Mieloma sintomático
  Mieloma quiescente
  Mieloma no secretor
  Mieloma IgD
  Mieloma osteosclerótico (síndrome de POEMS)
  Leucemia de células plasmáticas
- Plasmocitoma
  Plasmocitoma óseo solitario
  Plasmocitoma extramedular
- Macroglobulinemia de Waldenström
- Enfermedades de las cadenas pesadas
  Cadena pesada α
  Cadena pesada γ
  Cadena pesada μ
- Amiloidosis primaria (AL)

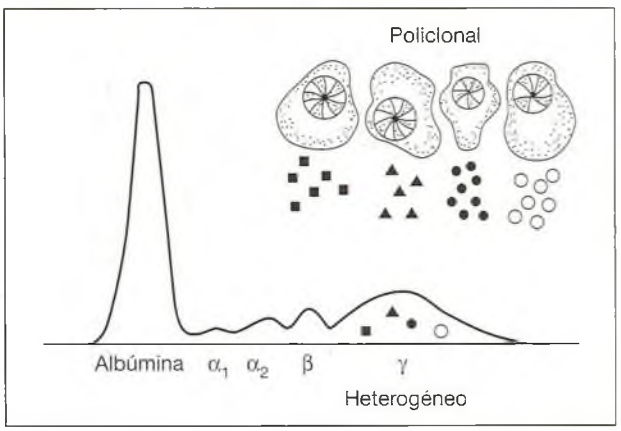


Figura 30.1. Representación electroforética esquemática de una *gammapatía policlonal*. Se observa una banda de base ancha y lomo romo que engloba la producción de diferentes inmunoglobulinas.

característica observada en las hepatopatías crónicas, conectivopatías o en determinadas infecciones (leishmaniosis). Por el contrario, la expansión neoplásica de una clona de linfocitos B o de células plasmáticas puede conducir a la producción incontrolada de inmunoglobulinas o de fragmentos de ellas, con la característica de ser estrictamente iguales entre sí. Estas inmunoglobulinas o proteínas monoclonales, al ser idénticas, poseen la misma carga eléctrica y, por consiguiente, una movilidad electroforética homogénea y simétrica que se manifiesta en forma de banda aislada, picuda y de base estrecha, en la región γ o β del proteinograma (fig. 30.2). Las inmunoglobulinas que presentan dicho comportamiento electroforético se denominan proteínas monoclonales (PM) o, abreviadamente, monoclonal (M).

En la detección y tipificación de una PM deben tenerse en cuenta diversos aspectos de índole práctica:

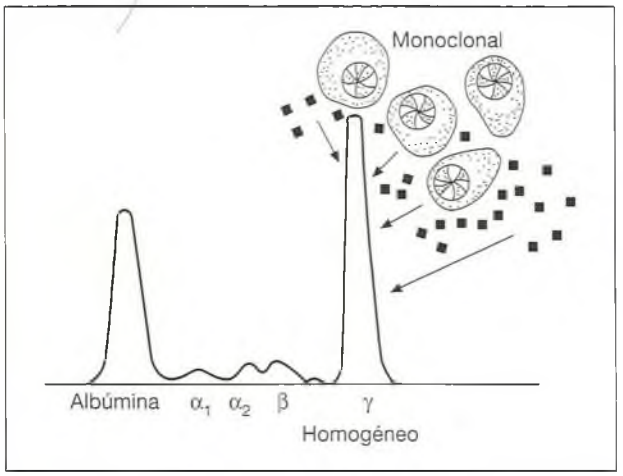


Figura 30.2. Representación electroforética esquemática de una *banda monoclonal*. Se observa una banda homogénea, de base estrecha y pico agudo, representativa de la producción de una proteína monoclonal.

1. En general, la electroforesis sérica no detecta concentraciones de M < 0,2 g/dL[1,2].
2. La banda monoclonal se observa, generalmente, en la región γ del proteinograma (IgG, IgM), pero en ocasiones también en la región β, en donde suele migrar la IgA. Incluso determinados monoclonales IgG pueden aparecer en la región α_2.
3. El aumento de diversas proteínas reactantes de fase aguda puede simular un M. El incremento del complejo libre hemoglobina-haptoglobina por una situación hemolítica puede ocasionar un pico semejante a un M en la zona de la α_2-globulina. Un aumento importante de la transferrina en la ferropenia puede mostrarse como una discreta banda en la región β. El fibrinógeno se observa como una discreta banda entre las regiones β y γ. En el síndrome nefrótico, el aumento de las α_2 y de las β-globulinas, conjuntamente con la disminución de las γ-globulinas y de la albúmina, puede interpretarse como un M[2]. Algunas hiperlipoproteinemias pueden simular un M en la región α_1.
4. Puede existir un M, incluso cuando las proteínas totales, α, β y γ-globulinas y las inmunoglobulinas cuantitativas se hallen dentro de los límites normales. En esta circunstancia, sólo la inmunofijación detecta la presencia de M.
5. No siempre el M de una gammapatía monoclonal maligna se observa en el proteinograma. Las concentraciones séricas de cadenas ligeras monoclonales (proteinemia de Bence-Jones) son demasiado bajas para ser visibles en forma de pico en el gel de agarosa, por su rápida eliminación por la orina. También en el caso de la IgD, el pico es pequeño y puede fácilmente no detectarse. En la enfermedad de las cadenas pesadas α, que se presenta en pacientes con enfermedad inmunoproliferativa del intestino delgado, no se detecta M por la tendencia de estas cadenas a polimerizar. En la enfermedad μ de las cadenas pesadas existe hipogammaglobulinemia, y sólo se detecta el monoclonal en el 40% de casos. Asimismo, en la variante γ de estas enfermedades, la apariencia es policlonal.
6. Aunque la forma habitual de expresión en el proteinograma es en forma de banda picuda, los agregados de

IgG, polímeros de IgA o formas diméricas o pentaméricas de IgM pueden dar una falsa imagen de aumento policlonal.

7. Es importante distinguir entre la concentración de M en la electroforesis y su concentración en la cuantificación del total de inmunoglobulinas. La electroforesis continúa siendo el mejor indicador de un M, pues cuando se evalúa un M sérico, las inmunoglobulinas totales acostumbran a estar aumentadas, porque las inmunoglobulinas normales se hallan incluidas en la medición[1]. Por el contrario, si el paciente tiene un M IgA < 2,0 g/dL, la electroforesis ofrece una medición difícil, debido a un aumento de base amplia en la región de las β-globulinas y, por ello, la nefelometría es más precisa.
8. La nefelometría mide las concentraciones de IgG, IgA, IgM y las cadenas ligeras κ y λ, es decir, cuantifica las inmunoglobulinas. Esta técnica no es un buen método de detección de un M cuando éste no se observa en la electroforesis sérica, pues infiere la monoclonalidad a partir del predominio de un isotipo sobre otro y, en caso de un M de baja concentración, con una relación κ/λ normal, el M puede pasar inadvertido.
9. La inmunofijación es el procedimiento de elección para confirmar e identificar un M, y es la técnica definitiva para diferenciar un M de un incremento policlonal de las inmunoglobulinas. Es especialmente útil en la detección del M cuando éste es de escasa cuantía, cuando existe una gammapatía biclonal y cuando el M está enmascarado por un fondo policlonal (M en la hiperglobulinemia de una hepatopatía crónica). La inmunofijación siempre debe realizarse cuando existe sospecha clínica de gammapatía maligna, aunque la electroforesis de proteínas sea normal. Esta técnica detecta M si éste presenta una concentración en suero superior a 0,02 g/dL y en orina superior a 0,004 g/dL. Es la técnica obligada para descartar la presencia de una IgD o una IgE monoclonal cuando se detecta una cadena ligera monoclonal y las IgG, IgA e IgM son negativas[3].

   La inmunoelectroforesis es una técnica actualmente en progresivo desuso. Un aspecto técnico que se debe tener en cuenta en la inmunofijación es que las reacciones óptimas de inmunoprecipitación aparecen cuando la inmunoglobulina sometida a estudio se diluye a una concentración de 100 mg/dL, aproximadamente. Por dicho motivo, es necesario efectuar siempre una electroforesis sérica antes de la inmunofijación y, según la cantidad del M, se efectuará la dilución apropiada para la inmunofijación. Si se detecta un M pequeño, el suero debe diluirse mucho menos que si el M es de gran cuantía. La finalidad de disponer de una dilución adecuada antes de efectuar la inmunofijación es evitar el fenómeno denominado de exceso de antígeno, que puede determinar la formación de inmunocomplejos que pueden eliminarse en el lavado de la tira del gel de inmunofijación antes de aplicar la técnica[4].
10. En los pacientes con un M debe estudiarse la orina con electroforesis e inmunofijación en una muestra de 24 horas. El examen ha de determinar la cantidad de proteínas eliminadas en 24 horas, y el tipo y la cantidad de proteinuria monoclonal en la orina concentrada 150 a 200 veces. Lo más importante en la medición de un M en orina reside en cuantificar las cadenas ligeras eliminadas, no el M intacto. La cantidad de M se obtiene multiplicando el porcentaje del M por la cantidad total de proteínas de la muestra de 24 horas.
11. El 5-8% de los monoclonales corresponde, en realidad, a dos monoclonales diferentes (gammapatía biclonal). La presencia de dos bandas obliga siempre a descartar, en primer lugar, la presencia de monómeros, polímeros o agregados. La electroforesis proteica detecta únicamente el 50% de casos biclonales, y se debe confirmar la presencia de dos monoclonales por inmunofijación[5].
12. En la actualidad, se dispone de la técnica de detección de cadenas ligeras en suero, que permite la cuantificación de las cadenas libres κ y λ, es decir, cadenas ligeras no unidas a las cadenas pesadas. Es especialmente útil en el diagnóstico y monitorización del mieloma de cadenas ligeras y de la amiloidosis AL, así como para confirmar el diagnóstico de mieloma no secretor. Se ha sugerido que dicha técnica podría ser de utilidad en la predicción del riesgo de progresión de la GMSI[6].

GAMMAPATÍA MONOCLONAL DE SIGNIFICADO INCIERTO

El hallazgo de un M en el suero o en la orina de un paciente no implica necesariamente la presencia de una gammapatía monoclonal maligna (mieloma, macroglobulinemia de Waldenström, amiloidosis, etc.). La gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI) constituye el principal ejemplo al respecto. La GMSI se caracteriza por la presencia en suero de un M < 30 g/L, ausencia o mínimas cantidades de cadenas ligeras en orina (< 50 mg/día), una plasmocitosis medular inferior al 10% y ausencia de lesiones líticas, anemia, hipercalcemia o insuficiencia renal (tabla 30.2)[7]. Representa la más frecuente de todas las gammapatías monoclonales detectadas en el laboratorio, como se demuestra en la experiencia de la Clínica Mayo de Estados Unidos[7] (tablas 30.3 y 30.4). Su frecuencia en la población normal se establece en un 3% de los individuos mayores de 70 años, y en un 1% de los de más de 50 años. Kyle, de la Clínica Mayo, ha sido el insigne estudioso de la GMSI y del resto de gammapatías monoclonales malignas, con la constancia de haber seguido evolutivamente 241 pacientes con GMSI durante un período de 24 a 38 años[7-11]. Este autor, denominó la situación del hallazgo inesperado de un M, con el término gammapatía monoclonal de significado incierto (*monoclonal gammopathy of undetermined significance*), en contraposición con la denominación anterior «benigna» o «idiopática», pues un porcentaje valorable de estos sujetos evolucionan finalmente a una gammapatía monoclonal maligna o a diferentes síndromes linfoproliferativos.

TABLA 30.2

Criterios diagnósticos de la gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI))

M en suero < 30 g/L
Proteinuria de Bence-Jones negativa o mínima
Plasmocitosis medular < 10%
Ausencia de anemia, hipercalcemia, insuficiencia renal y osteólisis
Ausencia de síndromes linfoproliferativos B

TABLA 30.3

Gammapatías monoclonales en la Clínica Mayo (1960-1995)*

	N.º	(%)
GMSI	13.022	62
Mieloma múltiple	3.851	18
Amiloidosis AL	1.716	8
Linfoproliferativos	537	2,5
Mieloma quiescente	650	3
Plasmocitoma	513	2,5
Macroglobulinemia	434	2
Otros	356	2

*Sobre 21.079 casos.
GMSI: gammapatía monoclonal de significado incierto.

TABLA 30.4

Distribución de los tipos de M en 962 pacientes con GMSI

Tipo	N.º (%)
IgG	535 (55,5)
IgM	189 (20)
IgA	100 (10)
Cadenas ligeras	57 (6)
Biclonal	76 (8)
IgD	5 (< 0,5)

GMSI: gammapatía monoclonal de significado incierto.

En la serie de 241 pacientes de Kyle, la patología asociada en el momento de la detección del M era diversa, y englobaba desde la ausencia de cualquier condición patológica demostrable hasta enfermedades cardiovasculares o cerebrovasculares, trastornos inflamatorios, neoplasias, trastornos neurológicos, conectivopatías, endocrinopatías y otras situaciones[9]. Después de un seguimiento de 24 a 38 años, algo más de la mitad de pacientes había fallecido por otras causas, y del resto, el 22% no había desarrollado ninguna gammapatía maligna, mientras que el 26% (62 pacientes) había evolucionado a mieloma, macroglobulinemia, amiloidosis u otro tipo de síndrome linfoproliferativo. El intervalo medio de aparición de dichas condiciones oscilaba entre 8 y 11 años, y la tasa actuarial de transformación se situaba en el 40% a los 25 años[7]. El riesgo de transformación es indefinido, y persiste incluso más allá de los 30 años[12].

Las características y el pronóstico a largo plazo de los pacientes con GMSI han sido confirmados y ampliados por el mismo autor en una serie de 1.384 pacientes estudiados entre 1960 y 1994[13]. Las tablas 30.5 y 30.6 describen con detalle las principales características de la serie. La probabilidad acumulada de progresión fue del 12, 25 y 30%, a los 10, 20 y 25 años, respectivamente. El riesgo relativo de desarrollar mieloma, Waldenström, amiloidosis AL, linfoma o plasmocitoma fue 25, 46, 8,4, 2,4 y 8,5 veces superior al de la población general. La tasa de progresión fue del 1% por año transcurrido desde el diagnóstico. La concentración inicial del M demostró ser el factor de riesgo más importante de progresión a gammapatía maligna, y los isotipos IgM o IgA presentaron mayor riesgo de progresión comparados con el isotipo IgG[13].

TABLA 30.5

Características clinicobiológicas de 1.384 pacientes con GMSI

- Relación H/M: 1,19
- Edad mediana al diagnóstico: 72 años
  59% ≥ 70 años; 2% < 40 años
- Concentración del M al diagnóstico (mediana): 1,3 g/dL
  IgG: 70%; IgM: 15%; IgA: 12%; biclonal; 3%
  Kappa: 61%; lambda: 39%
- Cadenas ligeras en orina:
  69%: negativo; 21%: kappa; 10%: lambda
  cadenas ligeras > 150 mg/24 h: 17%
- Reducción Ig policlonales: 38%
- Plasmocitosis medular (mediana): 3%

GMSI: gammapatía monoclonal de significado incierto; M: monoclonal.

TABLA 30.6

Concentración de M al diagnóstico en 1.384 pacientes con GMSI

M inicial (g/dL)	Pacientes (%)
≤ 0,50	24
0,51-1,00	19
1,01-1,50	33
1,51-2,00	18
2,01-2,50	5
2,51-3,00	1

GMSI: gammapatía monoclonal de significado incierto; M: monoclonal.

La progresión de los pacientes con GMSI de tipo IgM, que supone el 15-20% del total de las GMSI, también ha sido motivo de estudio, por considerar que presenta algún matiz diferente respecto a los isotipos IgG e IgA[14]. Sobre un total de 213 pacientes y con una media de seguimiento de 6,3 años, el 14% evolucionaron a linfoma linfoplasmacítico/Waldenström, leucemia linfática crónica y amiloidosis AL. El riesgo de progresión se estimó en el 1,5% y año, riesgo algo superior al 1% del conjunto de todas las GMSI. Dicho riesgo se relacionó directamente con la concentración de IgM al diagnóstico, de tal forma que a los 10 años fue del 14, 26, 34 y 41% para concentraciones de M inferiores a 0,5 g/dL,1,5 g/dL, 2,0 g/dL y superiores a 2,5 g/dL, respectivamente[14].

La actitud clínica práctica ante un paciente al que se le detecta una GMSI debe ser, en primer lugar, considerar si el paciente está asintomático o si los síntomas o trastornos que presenta guardan o no relación con una gammapatía mono-

clonal maligna. En caso negativo, deberían practicarse un mínimo de exámenes complementarios, que se detallan en la tabla 30.7[4]. Un tema en controversia es si, de forma rutinaria, debe realizarse un mielograma en el estudio inicial de una GMSI. Kyle recomienda al respecto diferentes pautas de actuación según la cuantía del M[2]. Cuando el paciente no presente características clínicas sugestivas de gammapatía monoclonal maligna y el M sea inferior a 15 g/L, sólo debe practicarse la tipificación del monoclonal, y no es necesario efectuar estudio de orina, mielograma, ni seriada ósea, recomendándose un proteinograma anual como seguimiento. Si el M es de 15 a 20 g/L, y el paciente se halla asintomático, deben cuantificarse las inmunoglobulinas y realizar un estudio de orina de 24 horas con inmunofijación, repitiendo el proteinograma a los 3 a 6 meses. Si el M es superior a 20 g/L, deberían practicarse los exámenes anteriores más un aspirado medular, seriada ósea, y determinar la β_2-microglobulina y la proteína C reactiva, pues la probabilidad de un mieloma múltiple es mayor[2].

TABLA 30.7

Exploraciones complementarias en la evaluación de una GMSI en un paciente asintomático

Hemograma completo, VSG
Proteínas totales y proteinograma
Inmunofijación
Cuantificación de inmunoglobulinas
Proteinuria de 24 horas, electroforesis e inmunofijación de la orina concentrada
Creatinina, calcemia
Mielograma (v. texto)

GMSI: gammapatía monoclonal de significado incierto.

Una cuestión clínica que puede plantearse en el proceso diagnóstico de una GMSI es la diferenciación con el mieloma múltiple quiescente y con la macroglobulinemia de Waldenström, por las obvias connotaciones pronósticas que ello significa. La determinación de las inmunoglobulinas policlonales no ayuda en el diagnóstico diferencial con el mieloma, pues el 38% de los pacientes con GMSI de la serie de Kyle que permanecieron estables evolutivamente, presentaban reducción de las mismas[12]. La concentración de β_2-microglobulina tampoco es de utilidad. En ocasiones, el aspirado medular es equívoco, tanto por el porcentaje de células plasmáticas, que en algún paciente puede superar el 10% aun siendo una GMSI, como por su aspecto morfológico, pues aunque atípicas, no implica ello adscribirlas obligadamente a células plasmáticas mielomatosas. En caso de un infiltrado linfoide o linfoplasmocitario extenso, o cuando existe una sospecha fundamentada de mieloma acompañada de un escaso porcentaje de células plasmáticas, la biopsia medular puede ayudar en el diagnóstico diferencial, al poder valorar una más amplia representación de tejido hematopoyético.

La citogenética convencional en la GMSI es normal. Aunque las técnicas de FISH pueden evidenciar numerosas alteraciones cromosómicas, no se han identificado todavía las que podrían ser potencialmente predictivas de la transformación de GMSI a mieloma. La incorporación de bromodesoxiuridina en las células plasmáticas, la presencia de un exceso clonal de linfocitos B en sangre periférica, las concentraciones séricas de interleucina 6 (IL-6) y la presencia de IL-1 en las células plasmáticas, son parámetros que pueden ayudar en la diferenciación con el mieloma y en la predicción de evolución al mismo, aunque por su complejidad, no se aplican de forma asistencial[5]. El inmunofenotipo de las células plasmáticas también puede aportar información en la adscripción a un supuesto comportamiento maligno o benigno, al ser las células plasmáticas mielomatosas CD56 y CD38 positivas y CD19 negativas, y al detectarse en la práctica totalidad de casos de GMSI más del 3% de plasmáticas normales[15].

No existe consenso, por tanto, sobre cuales son los parámetros biológicos predictivos de transformación maligna. Según algunos investigadores, los pacientes con GMSI que reúnen las siguientes condiciones: M ≤ 15 g/L, ausencia de reducción del resto de inmunoglobulinas policlonales, ausencia de detección de cadenas ligeras en orina y un porcentaje de células plasmáticas en médula ósea inferior al 5%, tienen un escaso riesgo evolutivo de transformación maligna[16]. Bladé sugiere que un factor que se debe tener en cuenta, aparte de la concentración del M al diagnóstico, es el patrón de evolución de la GMSI durante los primeros años de seguimiento, de forma análoga a como sucede en los dos tipos de mieloma quiescente: evolving y noevolving17 (v. Capítulo 31).

En definitiva, y como recomienda Kyle, el medio más seguro para establecer si una GMSI evolucionará o no a mieloma o a otro tipo de gammapatía monoclonal maligna, es la monitorización periódica del M en suero y, ocasionalmente, en orina, así como la valoración clínica del paciente.

Asociación de las gammapatías monoclonales con otras enfermedades

En ocasiones, la detección de una gammapatía monoclonal se realiza en el contexto de otra enfermedad. Para poder afirmar una asociación no casual entre las dos situaciones, debe conocerse la prevalencia con que cada una de ellas sucede de forma independiente, y efectuar estudios epidemiológicos y estadísticos poblacionales para evaluar dichas asociaciones[18].

El 3-4% de los *linfomas* de histología difusa y el 5% de pacientes con leucemia linfática crónica presentan una gammapatía monoclonal (GM). Por el contrario, es excepcional hallarla en el linfoma folicular y en el linfoma de Hodgkin. La presencia de una GM se ha descrito en diversas enfermedades hematológicas de estirpe mieloide, como la leucemia mielomonocítica crónica y la leucemia neutrofílica crónica. Determinadas *enfermedades cutáneas* se han asociado también con una mayor frecuencia de GM, entre ellas el liquen mixedematoso (IgG λ), el xantogranuloma necrobiótico, el pioderma gangrenoso y otras diversas[19].

La asociación más llamativa de las GM con otros trastornos es con las *neuropatías periféricas*. El 10% de los pacientes con polineuropatía periférica y sin enfermedad sistémica asociada presentan una GM. La hipótesis causal relaciona la actividad de la proteína monoclonal contra determinados antígenos neurales, concretamente el *myelin-associated glycoprotein* (MAG), y gangliósidos como el GM1. La neuropatía más frecuente es la IgM, aunque se han descrito casos de neuropatía por IgG e IgA. La neuropatía asociada con IgM anti-MAG afecta a varones en la sexta y séptima décadas, y es sensitiva, distal y simétrica, de curso progresivo y pronóstico relativamente favorable. Los estudios electrofisiológicos son compatibles con una neu-

ropatía desmielinizante. Las biopsias de nervio sural muestran en el examen ultraestructural afección de la mielina y depósitos de IgM y complemento en los haces de mielina por técnicas inmunohistoquímicas[20]. El tratamiento es generalmente ineficaz, y comprende la administración de inmunoglobulinas en altas dosis, plasmaféresis, inmunosupresores con corticoides, anti-CD20 y quimioterapia[20,21]. La conclusión práctica es que en la evaluación de un paciente con una polineuropatía idiopática, siempre debe efectuarse una inmunofijación en sangre y orina para detectar la posible presencia de una GM de posible patogenia polineurítica.

Después de un *trasplante* autógeno o alogénico de progenitores hematopoyéticos, puede detectarse una GM transitoria en el 40% de pacientes. La más frecuente es una IgG de baja concentración, que aparece entre los 2 y 6 meses posteriores, y persiste medio año, pero que incluso puede detectarse hasta 2 años después del trasplante[5]. En el contexto del trasplante renal, hepático y cardíaco se ha descrito GM en el 13-30% de pacientes. Se cree que la infección por citomegalovirus puede influir en el desarrollo de una GM postrasplante[5].

Se ha establecido una llamativa asociación en los pacientes con *infección por el virus* C. El 11% de los pacientes virus C positivos presentan una GM y se ha constatado una mayor prevalencia en estos casos del genotipo viral 2a/c[22]. En los pacientes *infectados por el* VIH es frecuente observar hipergammaglobulinemia policlonal de carácter reactivo y GMSI. La incidencia de GMSI es del 2,5%, con un incremento del riesgo de evolucionar a mieloma 4-5 veces superior[23].

Finalmente, se han descrito casos individuales de posible actividad anticuerpo de las proteínas monoclonales contra factores de la coagulación (déficit adquirido de Von Willebrand), calcio (hipercalcemia), cobre (hipercupremia), inhibidor de la C_1 esterasa (angioedema) e incluso provocando un cuadro de hipoglucemia por actividad del monoclonal contra la insulina[5].

AMILOIDOSIS PRIMARIA

La amiloidosis es un trastorno caracterizado por el depósito extracelular acumulativo, en diferentes sistemas u órganos y de forma localizada o sistémica, de un material amorfo e insoluble de estructura fibrilar proteica (sustancia amiloide), que produce alteraciones funcionales y manifestaciones clínicas en los órganos o tejidos afectados.

Según estudios epidemiológicos, afecta del 0,6 al 0,7% de la población hospitalaria, y su aparición complica del 6 al 15% de los pacientes con mieloma[24]. Su incidencia global se calcula en 8 pacientes por millón de habitantes y año[25].

En su descripción, sólo se hará referencia a la amiloidosis primaria o asociada al mieloma (amiloidosis AL), es decir, la amiloidosis mediada por depósitos de fragmentos de cadenas ligeras o pesadas, por ser su patogenia la única íntimamente relacionada con el contenido de esta obra.

Patogenia

La microscopia electrónica ha revelado que el amiloide AL (*amyloid light*) se compone de una red de fibrillas unidas entre sí, de 7,5 a 10 nm, lineales, no ramificadas y huecas en su interior, estructura que es común para todos los tipos de amiloide. En el examen microscópico óptico, el amiloide aparece como una sustancia de aspecto homogéneo y amorfo. Sus características ópticas están causadas por la disposición de las fibrillas, que adoptan un plegamiento en disposición β, responsable de sus propiedades tintoriales al ser expuesto al rojo Congo, y de su resistencia a la proteólisis.

La clasificación actual de las amiloidosis se basa en la estructura de las subunidades fibrilares proteicas precursoras de las diferentes formas de amiloidosis (tabla 30.8). La frecuencia relativa de las diferentes formas de amiloidosis observadas en 1.315 pacientes de la Clínica Mayo se detalla en la tabla 30.9. Así como en la amiloidosis AL las fibrillas están formadas por la porción variable de las cadenas ligeras monoclonales de las inmunoglobulinas, o con menor frecuencia, de las cadenas pesadas, en la amiloidosis secundaria (amiloidosis AA) las fibrillas están formadas por proteína A, en la amiloidosis familiar por una prealbúmina mutada, en la amiloidosis sistémica senil por prealbúmina normal (no mutada) y en la amiloidosis asociada con hemodiálisis, por β_2-microglobulina[26]. El amiloide también posee un componente denominado P, presente en todos los tipos de amiloidosis, que representa del 5 al 10% del amiloide. Al parecer,

TABLA 30.9

Tipos de amiloidosis en 1.315 pacientes

Tipo	Frecuencia
Primaria (AL)	70
Secundaria (AA)	3
Familiar	4
Senil	4
Localizada	19

TABLA 30.8

Nomenclatura de las principales amiloidosis

Proteína amiloide	Precursor	Sistémica (S) o localizada (L)	Expresión clínica
AL	Cadenas ligeras de las Ig	S, L	Primaria, asociada con mieloma
AH	Cadenas pesadas de las Ig	S, L	Primaria, asociada con mieloma
AA	Proteína amiloide A	S	Secundaria y familiar en la fiebre mediterránea familiar
$A\beta_2$ M	β_2-microglobulina	S, L?	Diálisis, síndrome del túnel carpiano
ATTR	Transtirretina	S	Familiar, sistémica senil
Aβ	Proteína precursora Ab (AbPP)	L	Enfermedad de Alzheimer

se relaciona con una α_1-globulina sérica, aunque su papel en la patogenia de la amiloidosis es desconocido[24].

La amiloidosis AL se relaciona con una clona de células plasmáticas que produce cadenas ligeras o pesadas de inmunoglobulinas de estructura aberrante. Se acepta que es la estructura primaria de las cadenas ligeras la que es responsable de la formación de amiloide. En la amiloidosis AL predominan las cadenas λ sobre las κ, con una relación κ/λ de 1:3. Asimismo, los subgrupos más frecuentes de cadenas ligeras implicados en la amiloidosis AL son la λ_{VI} y la κ[27].

Manifestaciones clínicas

La media de edad al diagnóstico de los pacientes con amiloidosis AL es de 65 años, y dos tercios pertenecen al sexo masculino. Sólo el 1% tiene menos de 40 años. Gertz y Kyle, de la Clínica Mayo, son los autores con mayor experiencia en amiloidosis, y se hará constante referencia a ellos en la descripción de la enfermedad[25,26,28-30].

Los síntomas clínicos más frecuentes al inicio de la amiloidosis son la fatiga y el adelgazamiento. Su inespecificidad determina que el diagnóstico de amiloidosis habitualmente no se considere, y no es infrecuente que se proceda incluso a la búsqueda de una neoplasia oculta. La tabla 30.10 detalla la frecuencia de los síntomas y signos físicos al inicio de la enfermedad, y la frecuencia de los diferentes síndromes clínicos observados. Los signos físicos asociados de forma típica a la amiloidosis, macroglosia, hinchazón submandibular y púrpura facial, sólo se hallan presentes en el 15% de pacientes[30]. En ocasiones, el paciente muestra seudohipertrofia muscular (*shoulder pad sign*) o un síndrome similar a la arteritis de la temporal, con claudicación mandibular, causado por oclusión amiloidea de las ramas de la arteria temporal.

En general, se acepta que debe considerarse el diagnóstico de amiloidosis cuando un adulto de más de 40 años presenta: *a*) síndrome nefrótico; *b*) insuficiencia cardíaca congestiva o miocardiopatía restrictiva; *c*) hepatomegalia, y *d*) neuropatía periférica. En caso afirmativo, debe procederse a inmunofijación del suero y de la orina, a fin de demostrar la existencia de una proteína monoclonal[25].

Aproximadamente un tercio de pacientes presenta *afección renal* en forma de síndrome nefrótico. La amiloidosis representa el 10% de las causas de síndrome nefrótico de los pacientes adultos no diabéticos[30]. La hipoalbuminemia determina la aparición de edemas y, frecuentemente, de anasarca. La mayoría de pacientes con amiloidosis renal no presentan aumento del tamaño renal mediante las técnicas de imagen. Un tercio de los pacientes con afección renal necesitarán diálisis.

La *afección cardíaca* es la segunda afección visceral más frecuente. Su presencia o ausencia es el factor pronóstico más importante en cuanto a la supervivencia. La sospecha clínica de amiloidosis cardíaca es obligada en un paciente con un M en suero u orina que presente disfunción cardíaca, sin historia isquémica o valvular conocida. El electrocardiograma presenta un bajo voltaje, pero es inespecífico. El ecocardiograma es la prueba diagnóstica de elección. El hallazgo más frecuente es el engrosamiento del tabique interventricular, que acostumbra a ser superior a 15 mm (normal, < 12 mm). Otros hallazgos característicos son un patrón moteado en el miocardio, engrosamiento de la pared del ventrículo derecho, que a veces puede confundirse con hipertrofia ventricular, y de las válvulas auriculoventriculares. Una fracción de eyección ventricular superior al 50% y un engrosamiento del tabique intraventricular inferior a 15 mm se han relacionado con un mejor pronóstico de supervivencia[30]. La biopsia endomiocárdica confirma el diagnóstico en el 100% de pacientes. Los pacientes con amiloide en las arterias coronarias pueden presentar síntomas anginosos e incluso infarto agudo de miocardio.

La *hepatomegalia* se detecta en una cuarta parte de pacientes, y la afección hepática se manifiesta de forma típica en un aumento de las fosfatasas alcalinas, sin alteraciones en las pruebas de imagen. La hipertensión portal y el sangrado por varices esofágicas es infrecuente. La biopsia de las mucosas gástrica y rectal demuestra depósitos vasculares de amiloide en el 90 y 80% de pacientes, respectivamente. Otras manifestaciones gastrointestinales también pueden ser la diarrea y la isquemia intestinal.

La *neuropatía periférica* amiloidea simula la neuropatía diabética y, a veces, la polineuropatía crónica inflamatoria desmielinizante. Los síntomas típicos son parestesias en extremidades inferiores progresivamente ascendentes. La biopsia del nervio sural confirma el diagnóstico, aunque debe tenerse en cuenta que como los depósitos de amiloide son focales, se necesita un examen meticuloso y exhaustivo de la muestra. Los pacientes con neuropatía amiloide acostumbran a presentar proteinuria, lo que constituye un dato clínico a recordar en el diagnóstico diferencial de las polineuritis. La *neuropatía autonómica* o *disautonomía*, se manifiesta por hipotensión ortostática, impotencia, enlentecimiento intestinal o estreñimiento.

Un escaso porcentaje de pacientes presenta *púrpura*, de localización típicamente periorbitaria, que puede aparecer después de un mínimo traumatismo. En una serie de 337 pacientes, el 28% presentó diátesis hemorrágica, y el 51%, alteraciones de las pruebas básicas de hemostasia. Concretamente, las dos alteraciones más frecuentes fueron la prolongación del tiempo de trombina y del tiempo de protrombina.

TABLA 30.10

Síntomas, signos y síndromes clínicos de la amiloidosis AL al diagnóstico

Síntomas	(%)	Signos físicos	(%)	Síndromes	(%)
Fatiga	62	Hepatomegalia	24	Síndrome nefrótico	28
Adelgazamiento	52	Esplenomegalia	5	Insuficiencia cardíaca congestiva	17
Dolor	5	Adenopatías	3	Hipotensión ortostática	11
Púrpura	15	Macroglosia	9	Síndrome del túnel carpiano	21
				Neuropatía periférica	17

En el 14% se detectó disminución de la actividad del factor X, sin detectarse inhibidor para éste. La prolongación del tiempo de trombina se asoció con infiltración hepática y con síndrome nefrótico. El sangrado también puede ser consecuencia directa de la infiltración amiloide de los pequeños vasos, que determina aumento de la fragilidad vascular[31].

Pruebas de laboratorio

La mayoría de pacientes no presenta anemia, salvo que coexista un mieloma, insuficiencia renal o sangrado gastrointestinal. El 10% de los pacientes presenta trombocitosis por hipoesplenismo funcional. La función renal se halla afectada en un tercio de pacientes en el momento del diagnóstico, y el colesterol y los triglicéridos pueden hallarse aumentados cuando aparece un síndrome nefrótico.

La electroforesis sérica muestra un M en casi el 50% de casos, con un 20% que presenta hipogammaglobulinemia y un 30% que cursa con proteinograma normal. Las proteínas monoclonales en la amiloidosis son de poca cuantía o en cadenas ligeras, lo que no se traduce por un pico en el proteinograma, y determina que la electroforesis no sea un buen método de cribaje de la amiloidosis. La inmunofijación del suero y de la orina detecta cadenas ligeras monoclonales en el 90% de pacientes. Las cadenas ligeras λ predominan sobre las κ. La tabla 30.11 detalla los diversos patrones electroforéticos habituales en sangre y orina. La técnica de determinación de las cadenas ligeras libres en suero constituye un excelente método de detección y monitorización del monoclonal en la amiloidosis, sobre todo en los pacientes con inmunofijación negativa en suero y orina, pues demuestra positividad (relación κ/λ anormal) en el 68% de los casos para λ y en el 30% para κ, siendo sólo un 2% de los casos negativos[32].

TABLA 30.11

Patrones electroforéticos en la amiloidosis AL

M en suero	(%)	M en orina	(%)
IgG	32	Cadenas λ	50
IgA	10	Cadenas κ	23
IgM	5	Negativo	27
IgD	1		
Cadenas κ	9		
Cadenas λ	15		
Negativo	28		

M: monoclonal.

El porcentaje de células plasmáticas en la médula ósea es inferior al 10% en un 60% de casos, y sólo el 15% tienen más del 20%[25]. Cuando el porcentaje de células plasmáticas supera el 30%, debe considerarse el diagnóstico de mieloma asociado a amiloidosis. Las alteraciones cromosómicas que pueden detectarse no son específicas.

Diagnóstico y diagnóstico diferencial

El diagnóstico de sospecha de AL se fundamenta en la presencia de un M en sangre u orina en un paciente con síndrome nefrótico, neuropatía periférica, insuficiencia cardíaca congestiva refractaria al tratamiento, síndrome del túnel carpiano, hipotensión ortostática o malabsorción (tabla 30.12). El diagnóstico de confirmación se realiza mediante la demostración de la típica birrefringencia de color verde esmeralda en el tejido infiltrado, teñido con rojo Congo, al ser examinado con el microscopio de polarización. La tinción con tioflavina T produce una fluorescencia amarillo-verdosa intensa. La biopsia del órgano sospechoso de hallarse afectado no siempre es posible y, además, conlleva un valorable riesgo de sangrado, sobre todo en las biopsias renales y hepáticas. La aspiración de la grasa subcutánea tiene un 70-80% de rendimiento diagnóstico efectivo. Es un procedimiento indoloro, puede efectuarse de forma ambulatoria y no implica riesgos de sangrado[33]. La biopsia medular teñida para amiloide es positiva en el 50% de pacientes, y cuando se combina ésta con la aspiración de la grasa subcutánea, el rendimiento puede alcanzar el 80-90%[34]. El porcentaje de positividad para la biopsia rectal, renal, hepática, del nervio sural y cardíaca es del 75, 94, 97, 86 y 100%, respectivamente[35].

TABLA 30.12

Proceso diagnóstico de la amiloidosis primaria

1. Considerar diagnóstico de amiloidosis AL si:
   - Síndrome nefrótico no diabético
   - Cardiomiopatía no isquémica
   - Hepatomegalia sin focalidad/es de imagen
   - Polineuropatía periférica (no diabética)
   - Mieloma «atípico» (cadenas ligeras en orina + < 10% plasmáticas en médula ósea)
2. Inmunofijación en suero y orina; cadenas ligeras libres en suero
3. Biopsia médula ósea y grasa subcutánea (rojo Congo)
4. Ecocardiografía con Doppler; troponina sérica, péptido cerebral natriurético; β_2-microglobulina

La distinción entre la amiloidosis AL y AA puede efectuarse mediante la prueba del permanganato potásico, pues éste modifica la configuración del amiloide secundario AA, de forma que ya no se tiñe con rojo Congo, mientras que el amiloide AL resiste su acción[36], aunque la fiabilidad de este procedimiento no es absoluta. La *amiloidosis AA*, reactiva o secundaria, se asocia a procesos infecciosos o reumáticos crónicos. Las diversas clases de amiloide se diferencian actualmente mediante anticuerpos específicos contra κ, λ, proteína A, prealbúmina y β_2-microglobulina y otras proteínas amiloidogénicas, así como por análisis de secuenciación de aminoácidos o espectofotometría de masas. Existen técnicas de PCR que identifican mutaciones de la transtirretina, fibrinógeno, lisozima y apolipoproteína AI[37].

Las fibrillas en la amiloidosis AL derivan de la región variable de las cadenas λ en el 75% de casos. El hecho de que sea la parte variable, explica que, en ocasiones, la tinción con anti-kappa y anti-lambda es, a veces, sólo debilmente positiva por la pérdida de epítopos antigénicos de la región constante (los que reconocen la mayoría de antisueros comerciales) durante el proceso proteolítico[37,38]. Debe tenerse en cuenta la posibilidad de confundir una amiloidosis AL con otras formas hereditarias de amiloidosis en

pacientes que, por su edad, presentan una GMSI. En estos casos, debería considerarse la posibilidad de efectuar tipificación del amiloide para fibrinógeno o transtirretina, y así poder reconocer formas hereditarias de amiloidosis no mediadas por cadenas ligeras[34]. También la *amiloidosis cardíaca senil* debería descartarse mediante la identificación de la transtirretina en el depósito amiloide.

La *enfermedad por depósito de cadenas ligeras, pesadas o ligeras y pesadas* debe tenerse en cuenta en el diagnóstico diferencial de la amiloidosis AL. Se trata de un proceso que afecta de forma predominante a mujeres jóvenes (30-50 años), y que cursa con afección renal, pero también hepática y cardíaca. De forma similar a la amiloidosis AL, la enfermedad puede estar asociada con mieloma u otras gammapatías malignas o síndromes linfoproliferativos. Las tinciones de rojo Congo y tioflavina T son negativas, y las cadenas ligeras acostumbran a ser kappa, sin componente P amiloide. La inmunohistoquímica de la biopsia renal revela depósitos granulares y no fibrilares de cadenas ligeras en las membranas basales tubular, glomerular, en el mesangio y en la cápsula de Bowman. La inmunofijación muestra componente monoclonal en el 70-85% de casos[39].

En síntesis, y respecto al diagnóstico diferencial de las diversas formas de amiloide, siempre deberían tipificarse las cadenas kappa y lambda y la sustancia P de la fibrilla amiloide. Si los resultados son negativos, debería tipificarse con proteína A, transtirretina, fibrinógeno y otras proteínas amiloidogénicas, para poder identificar las formas secundarias, familiares y seniles. Hay que recordar que, aunque la presentación clínica de las diversas amiloidosis puede ser similar, su pronóstico y la terapéutica pueden ser, en cambio, sustancialmente diferentes, por lo que es fundamental su correcta tipificación.

Pronóstico

La supervivencia media de los pacientes con amiloidosis AL es de 1-2 años, y sólo el 5% de pacientes vive 10 o más años[40]. El pronóstico está determinado, fundamentalmente, por la presencia o ausencia de afección cardíaca en el momento del diagnóstico. Los pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva sobreviven 6 meses. Por dicho motivo, la valoración de diversas características ecocardiográficas (grosor del tabique interventricular, función diastólica y fracción de eyección) por ecocardiografía Doppler es básica, y se aconseja repetirla cada 6 meses[30,34,41] (tabla 30.13). La causa de fallecimiento en el 50% de casos es cardíaca, por cardiomiopatía progresiva congestiva y por arritmias (fibrilación ventricular)[29,34]. Otros factores clínicos peyorativos iniciales son la presencia de neuropatía autonómica, la afección hepática con aumento de las fosfatasas alcalinas y el número de órganos afectados (tabla 30.13). En contraposición, los pacientes que se inician con polineuropatía periférica o síndrome nefrótico como manifestaciones clínicas predominantes, pertenecen al grupo de mejor pronóstico desde un punto de vista clínico.

Los marcadores biológicos están adquiriendo un especial protagonismo en la amiloidosis, por su significado pronóstico. Un porcentaje superior al 1% de células plasmáticas en sangre periférica, determinado por técnicas de inmunofluorescencia, así como un porcentaje de plasmáticas en médula ósea superior al 10%, poseen un significado adverso[42]. La determinación de parámetros biológicos que permiten un diagnóstico precoz de la afectación cardíaca, como las troponinas cardíacas I y T y el péptido natriurético cerebral, permiten identificar con mayor precisión el pronóstico tanto en el momento del diagnóstico a través de un sistema de estadificación bioquímico de la supervivencia[43], como en el pronóstico en los pacientes candidatos a TPH[44]. La respuesta al tratamiento quimioterápico convencional o intensivo, valorado por la reducción de las cadenas ligeras libres en suero, que es paralela a la mejoría de los órganos afectados, también constituye un nuevo parámetro pronóstico[34].

Las técnicas de imagen, como la gammagrafía con proteína sérica amiloide A, restringida a centros monográficos de amiloidosis, puede ayudar en la valoración inicial de la extensión y distribución de los órganos afectados por amiloide y para evaluar la respuesta al tratamiento[41]. Un resumen de los principales factores pronósticos se detalla en la tabla 30.14.

Tratamiento

La finalidad del tratamiento es impedir de forma precoz la síntesis anómala de cadenas ligeras por las células plasmáticas clonales antes de que se produzcan lesiones tisulares u orgánicas irreversibles. Los tratamientos actuales se basan en la observación de que los depósitos de amiloide pueden reabsorberse y restaurarse la función orgánica dañada a través de la supresión de la síntesis de la proteína precursora de amiloide. La tabla 30.15 muestra las principales opciones terapéuticas en la amiloidosis AL. A continuación, se describen las opciones de tratamiento actuales, de

TABLA 30.13

Criterios diagnósticos no invasivos de afección orgánica

Afección orgánica	Comenzo (1998)	Dispenzieri (2001)
Cardíaca	Tabique interventricular izquierdo > 11 mm sin historia de HTA o valvulopatía	Tabique interventricular > 12 mm y/o cardiomiopatía infiltrativa y/o disfunción diastólica por ecocardiografía
Renal	Proteinuria > 0,5 g/24 h	Proteinuria > 0,5 g/24 h
Hepática	Hepatomegalia + FA > 200 U/l	Hepatomegalia (> 4 cm) + FA > 1,5 valor normal
Neurológica	Adenopatía autonómica con hipotensión ortostática, atonía gástrica y neuropatía periférica	Neuropatía periférica (diferente del síndrome del túnel carpiano) o neuropatía autonómica

FA: fosfatasa alcalina.

TABLA 30.14

Factores pronósticos en la amiloidosis AL

	Desfavorables	Favorables
Clínicos	Afección cardíaca clínica o ecocardiográfica Neuropatía autonómica Afección hepática con hiperbilirrubinemia/aumento de fosfatasas alcalinas Mieloma asociado Gran número de órganos afectados	Proteinuria o neuropatía[a] como clínica predominante
Biológicos/imagen	Plasmáticas en sangre periférica > 1%[b] Plasmáticas en MO > 10% Aumento β_2-microglobulina Aumento troponinas cardíacas y péptido natriurético cerebral Grosor del tabique interventricular > 15 mm Gammagrafía con PSA muy positiva	
Relacionados con el tratamiento		Regresión depósitos gammagrafía con PSA Disminución M en suero/orina > 50% Reducción cadenas ligeras en suero > 50% Normalidad troponinas cardíacas y péptido natriurético cerebral (TPH) Remisión completa (TPH)

[a]Sin neuropatía autonómica. [b]Técnica de inmunofluorescencia.
MO: médula ósea; PSA: proteína sérica amiloide; TPH: como factor pronóstico en el trasplante de progenitores hematopoyéticos.

TABLA 30.15

Tratamiento de la amiloidosis primaria

Trasplante autógeno de progenitores hematopoyéticos
VAD
Melfalán (dosis intermedias) + dexametasona
Melfalán + prednisona/prednisolona
Dexametasona (dosis altas/intermedias)
Talidomida ± dexametasona
Tratamiento de soporte

acuerdo con las recomendaciones de expertos y guías de consenso[34,41].

Aunque históricamente se consideró un tratamiento eficaz, la colchicina ya no es actualmente una opción válida. El tratamiento con melfalán y prednisona o prednisolona en dosis similares a las utilizadas en el mieloma múltiple, consigue un escaso porcentaje de respuestas, aunque mejora la supervivencia de los pacientes que responden respecto a los que no responden. Se considera el tratamiento de elección, por su escasa toxicidad y buena tolerancia, para los pacientes no candidatos a tratamientos más intensivos. Un inconveniente importante es la prolongada duración del tratamiento, necesaria para conseguir una respuesta clínica, que incrementa el riesgo de aparición de síndrome mielodisplásico/leucemia aguda. Los esquemas de poliquimioterapia tipo VBMCP, VMCP, ABCM y VBAP, utilizados en el mieloma, no se consideran efectivos. Una estrategia utilizada por los grupos ingleses reside en la combinación de dosis intermedias de melfalán asociadas a dexametasona: melfalán 25 mg/m^2 día 1, más dexametasona, 20 mg los días 1-4, cada 28 días. Dicha estrategia se recomienda en pacientes con contraindicación a la poliquimioterapia VAD, preconizándose la recolección previa de progenitores hematopoyéticos por la posible depleción asociada al tratamiento. El VAD se utiliza como primera línea de tratamiento en pacientes de menos de 70 años que no presenten fallo cardíaco o neuropatía periférica o autonómica, por la posible cardiotoxicidad de la adriamicina o exacerbación de la neuropatía por la vincristina. Presenta un valorable porcentaje de respuestas sin ocasionar depleción de progenitores hematopoyéticos, pero también problemas de retención hídrica y cardiológicos, por la dexametasona. Este último fármaco, en dosis habituales o atenuadas y como monoterapia, es una alternativa en los pacientes que no toleran o son refractarios a la quimioterapia o no son candidatos a VAD. La talidomida es una posible opción a considerar en pacientes sin neuropatía y refractarios a la quimioterapia. En general, su tolerancia es escasa por sus numerosos efectos secundarios. Dicho fármaco, en dosis escaladas y asociado con dosis intermedias de dexametasona, consigue respuestas rápidas, pero con una importante toxicidad[45].

Las dosis altas de melfalán con rescate de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica (TPH) constituyen el tratamiento más efectivo. La elevada mortalidad observada en los primeros trasplantes (43%) se ha reducido de forma significativa gracias a la selección individualizada del paciente y de la dosis de melfalán aplicada, esta última basada en la edad del paciente y la afección orgánica, mediante un sistema de riesgo pronóstico[34], hasta alcanzar una cifra promedio del 13-14% de mortalidad e incluso inferior, en centros con gran experiencia en este procedimiento. La dosis

mínima recomendada de células CD34 es de 5×10^6/kg. La tasa de respuestas globales es del 50-60%, con 1/3 de remisiones completas. La respuesta completa se define como negatividad de detección del monoclonal en sangre y orina por inmunofijación, menos del 5% de plasmáticas en médula ósea, y relación de cadenas ligeras libres en suero normal. Las respuestas hematológicas completas se asocian con prolongación de la supervivencia y mejoría de la disfunción orgánica, lo que se traduce, en definitiva, en una mejor calidad de vida. Los procedimientos habituales del TPH en la amiloidosis presentan dificultades adicionales a las habituales, tanto en el proceso de movilización de precursores (edema, hipotensión e hipoxia durante la aféresis), como durante la infusión de los mismos por la toxicidad cardíaca del DMSO.

En la serie más amplia de trasplantes publicada, sobre 312 pacientes tratados con dosis altas de melfalán (100 a 200 mg/m^2), se obtuvo un 40% de respuestas completas, con una mortalidad relacionada con el trasplante en los 100 primeros días del 13%. La supervivencia media fue de 4,6 años, siendo de 1,6 años frente a 6,4 años para los pacientes con o sin afectación cardíaca, respectivamente. Las dosis altas de melfalán (200 mg/m^2) se asociaron con más remisiones completas y mejor supervivencia[46]. En un estudio caso-control retrospectivo de la Clínica Mayo que comparó la supervivencia de 63 pacientes trasplantados frente a la de otros 63 pacientes que recibieron quimioterapia y de iguales características (edad, sexo, afección orgánica), se evidenció una mejor supervivencia a los 4 años en los pacientes trasplantados[47]. En este centro seleccionan a los pacientes candidatos a TPH si reunen las siguientes características: edad inferior a 70 años, ausencia de mieloma asociado, grosor del tabique interventricular menor de 15 mm, fracción de eyección de más del 55%, creatinina inferior a 2 mg/dl y bilirrubina inferior a 2 mg/dl.

El tratamiento de soporte debe contemplar diversos aspectos específicos por la afección visceral y lesión tisular característicos de estos pacientes. Así, en caso de cardiopatía, debe aconsejarse la restricción de sodio, utilizar con precaución los agentes inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina, evitar la digoxina, los β-bloqueantes y los bloqueadores de los canales del calcio, y monitorizar el potasio, por la facilidad de aparición de arritmias. En la afección renal, evitar la deshidratación y los antiinflamatorios no esteroideos, utilizar diuréticos de asa y espironolactona, y considerar la diálisis en caso de insuficiencia renal. La fibrogastroscopia es necesaria en ocasiones para confirmar la infiltración gástrica, y la cisaprida y el octeótrido son útiles en caso de disminución de la motilidad gástrica o de diarrea, respectivamente. El 10% de los pacientes presenta hipotiroidismo, que debe detectarse y corregirse mediante tratamiento sustitutivo. La afectación neuropática puede tratarse con gabapentina y/o analgesia no nefrotóxica, y la hipotensión ortostática, por disautonomía con midodrina[48].

Las formas localizadas de amiloidosis se observan principalmente en los sistemas respiratorio (alto o bajo), urológico y cutáneo. El tratamiento es local, en general quirúrgico, aunque puede precisar técnicas como la broncoscopia con láser para la afección respiratoria, instilaciones de DMSO para la amiloidosis uretral y vesical, y tratamiento tópico con DMSO para las localizaciones cutáneas[34].

BIBLIOGRAFÍA

1. Alexanian R, Weber D, Liu F. Differential diagnosis of monoclonal gammopathies. Arch Pathol Lab Med 1999; 123:108-113.
2. Kyle RA. Sequence of testing for monoclonal gammopathies. Arch Pathol Lab Med 1999; 123:114-118.
3. The International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. Br J Haematol 2003; 121:749-757.
4. Keren DF. Procedures for the evaluation of monoclonal immunoglobulins. Arch Pathol Lab Med 1999; 123:126-132.
5. Kyle RA, Rajkumar SV. Monoclonal gammopathies of undetermined significance: a review. Immunol Rev 2003; 191:112-139.
6. Rajkumar SV, Kyle RA, Therneau TM et al. Presence of monoclonal free light chains in the serum predicts risk of progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. Br J Haematol 2004; 127:308-310.
7. Kyle RA. Monoclonal gammopathy of undetermined significance and solitary plasmocytoma. Hematol Oncol Clin North Am 1997; 11:71-88.
8. Kyle RA. Monoclonal gammopathy of undetermined significance. Natural history in 241 cases. Am J Med 1978; 64:814-826.
9. Kyle RA. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS): a review. Clin Haematol 1982; 11:123-150.
10. Kyle RA. Benign monoclonal gammopathy. A misnomer? JAMA 1984; 251:1849-1854.
11. Kyle RA. «Benign» monoclonal gammopathy after 20 to 35 years of follow-up. Mayo Clin Proc 1993; 68:26-36.
12. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Larson DR, Plevak MF, Melton LJ. Long-term follow-up of 241 patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance: the original Mayo Clinic series 25 years later. Mayo Clin Proc 2004; 79:859-866.
13. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV et al. A long-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance. N Engl J Med 2002; 346:564-569.
14. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV et al. Long-term follow-up of IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance. Blood 2003; 102:3759-3764.
15. Ocqueteau M, Orfao A, Almeida J et al. Immunophenotypic characterization of plasma cells from monoclonal gammopathy of undetermined significance patients. Implications for the differential diagnosis between MGUS and multiple myeloma. Am J Pathol 1998; 152:1655-1665.
16. Baldini L, Guffanti A, Cesana BM et al. Role of different hematologic variables in defining the risk of malignant transformation in monoclonal gammopathy. Blood 1996; 87:912-918.
17. Bladé J. On the «significance» of monoclonal gammopathy of undetermined significance. Mayo Clin Proc 2004; 79:855-856.
18. Kyle RA. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS). Baillière's Clin Haematol 1995; 8:761-781.
19. Daoud MS, Lust JA, Kyle RA, Pittelkow MR. Monoclonal gammopathies and associated skin disorders. J Am Acad Dermatol 1999; 40:507-535.
20. Nobile-Orazio E. Neuropathy and monoclonal gammopathy. Haematologica 2004; 89(Suppl 11):23-29.
21. Ropper AH, Gorson KC. Neuropathies associated with paraproteinemia. N Engl J Med 1998; 338:1601-1607.
22. Andreone P, Zignego AL, Cursaro C et al. Prevalence of monoclonal gammopathies in patiens with hepatitis C virus infection. Ann Intern Med 1998; 129:294-298.
23. Dezube BJ, Aboulafia DM, Pantanowitz L. Plasma cell disorders in HIV-infected patients: from benign gammopathy to multiple myeloma. AIDS Read 2004; 14:372-379.
24. Glenner GG. Amyloid deposits and amyloidosis. N Engl J Med 1980; 302:1283-1292;1333-1343.
25. Gertz MA, Lacy MQ, Dispenzieri A. Amyloidosis: recognition, confirmation, prognosis and therapy. Mayo Clin Proc 1999; 74:490-494.

CAPÍTULO 31

Mieloma múltiple

J. Bladé y L. Rosiñol

ÍNDICE

Introducción
Epidemiología y etiología
Características biológicas de la célula plasmática
Manifestaciones clínicas
Datos de laboratorio
Diagnóstico y diagnóstico diferencial
Factores pronósticos
Tratamiento
Tratamiento citostático inicial
Tratamiento de mantenimiento
Tratamiento de las recaídas
Tratamiento del mieloma primariamente resistente
Tratamiento del mieloma resistente a los agentes alquilantes
Trasplante de progenitores hematopoyéticos
Nuevos fármacos
Tratamiento de las complicaciones
Formas especiales de mieloma
Leucemia de células plasmáticas
Mieloma no secretor
Mieloma osteosclerótico
Mieloma en pacientes jóvenes
Mieloma IgD
Mieloma IgM
Mieloma quiescente
Mieloma «no respondedor, no progresivo»
Plasmocitomas localizados
Bibliografía

INTRODUCCIÓN

El mieloma múltiple (MM) constituye el prototipo de gammapatía monoclonal maligna, y se caracteriza por la proliferación neoplásica de una clona de células plasmáticas que produce una inmunoglobulina de carácter monoclonal. Constituye el 1% de todas las neoplasias y alrededor del 10% de las hemopatías malignas. En el MM, la proliferación plasmocelular da lugar a destrucción esquelética, con osteoporosis y/u osteólisis, hipercalcemia, anemia y, en ocasiones, plasmocitomas extramedulares. Por otro lado, el exceso de producción de la proteína monoclonal puede conducir a insuficiencia renal, infecciones bacterianas de repetición o a síndrome de hiperviscosidad[1].

EPIDEMIOLOGÍA Y ETIOLOGÍA

Las causas del MM no están bien establecidas. Se ha referido una mayor incidencia en personas expuestas a radiaciones, insecticidas y pesticidas[2], si bien la mayoría de estudios epidemiológicos adolecen de limitaciones. Probablemente, en la patogenia del MM subyace algún trastorno del sistema inmunitario relacionado con la edad. De hecho, alrededor del 3% de los individuos mayores de 70 años presentan una gammapatía monoclonal de significado indeterminado (GMSI). Dicha condición consiste en la presencia de un componente monoclonal sérico de escasa cuantía (< 30 g/L) y una proporción de células plasmáticas en la médula ósea inferior al 10%, sin lesiones óseas, anemia, insuficiencia renal ni manifestación clínica alguna atribuible a la gammapatía monoclonal[3]. En la GMSI la clona de células plasmáticas permanece estable durante años y, tras un largo período de estabilidad (media de 10 años), hasta en el 25% de los casos esta clona estable escapa a «mecanismos reguladores» y se transforma en una proliferación tumoral que da lugar al MM sintomático[3]. Por otra parte, el 58% de los pacientes diagnosticados de MM en la comunidad de Olsmted County (Minnesota) tenían el antecedente de una gammapatía mono-

clonal (GMSI, mieloma quiescente o plasmocitoma localizado)[4]. Ello sugiere que las gammapatías asintomáticas preceden al MM en una proporción de casos mayor de la que hasta la fecha se ha venido considerando. A mayor abundamiento, actualmente se considera que el MM aparece como consecuencia de varios pasos oncogénicos[5]. Diversos estudios citogenéticos y moleculares han mostrado la presencia de alteraciones cromosómicas ya en la fase de GMSI, y la adquisición de nuevas anomalías citogenéticas favorecería la aparición de un MM sintomático.

La incidencia anual del MM es de 4 casos nuevos por 100.000 habitantes y año. Su frecuencia no se ha incrementado en las últimas décadas[6]. Se observa en todas las razas y áreas geográficas, con una menor incidencia en las poblaciones asiáticas. Su incidencia en los negros americanos es el doble de la que se observa en los blancos. No existe un claro predominio sexual. La mediana de edad se sitúa alrededor de los 65 años. Únicamente el 12 y el 2% de los pacientes tienen menos de 50 y 40 años, respectivamente[7]. En los menores de 30 años, el MM es excepcional (0,3% de los casos)[8].

Características biológicas de la célula plasmática

El MM es una proliferación clonal de células linfoides B maduras que han pasado por el centro germinal del folículo linfoide. El fenotipo de la célula plasmática mielomatosa es IgS–, IgC+, CD38+, CD138+ (Syndecan-1), CD19–, CD56+, a diferencia de la célula plasmática normal, que expresa el fenotipo CD19+, CD56–[9]. Puede tener, además, expresión variable de otros antígenos de línea B o de otras líneas hematopoyéticas (CD10, CD20, CD22, CD34, CD117). La proporción de células plasmáticas de fenotipo normal (CD19+, CD56–) o patológico (CD19–, CD56+) contribuye a diferenciar el MM de la GMSI[10].

La célula mielomatosa y las células de la estroma medular se relacionan entre sí mediante una serie de citocinas y factores de crecimiento que regulan la proliferación y diferenciación celular. Se ha identificado la interleucina-6 (IL-6) como el factor crucial para la proliferación de las células del mieloma, tanto *in vitro* como *in vivo*[11], además de estimular la actividad osteoclástica. De hecho, los anticuerpos anti-IL-6 bloquean el crecimiento de las células plasmáticas *in vitro*, y la proliferación tumoral, tanto en líneas celulares mielomatosas como en los pacientes que reciben tratamiento con dichos anticuerpos[12].

Otras citocinas implicadas en la patogénesis del MM son el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α)[13], la IL-10, el factor de crecimiento de la insulina-1 (IGF-1) o el factor estimulante de colonias granulocíticas-monocíticas (GM-SCF). El factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) es un potente factor angiogénico responsable, por lo menos en parte, del importante incremento de la angiogénesis, o formación de nuevos vasos, observado en el MM. La angiogénesis, además de ser un factor pronóstico adverso, constituye una diana terapéutica para nuevos agentes con propiedades antiangiogénicas.

La baja capacidad proliferativa de la célula plasmática mielomatosa ha dificultado en gran medida los estudios citogenéticos en el MM. Cuando se consiguen mitosis adecuadas, la frecuencia de alteraciones citogenéticas se cifra en el 30-50%[14]. Mediante estimulación con citocinas el rendimiento de la citogenética convencional aumenta hasta el 50 a 60%. Hoy existen dos estrategias complementarias a la citogenética convencional: la hibridación *in situ* fluorescente (FISH) y la hibridación genómica comparada (HGC). La utilización de FISH con sondas centroméricas en interfase logra detectar aneuploidías en el 80% de los pacientes con MM y en el 50% de los sujetos con GMSI. Por otro lado, la HGC permite identificar ganancias o pérdidas de material cromosómico con una doble hibridación a partir del DNA, sin que sea preciso obtener metafases[15]. En el MM se acostumbran a encontrar cariotipos complejos con cambios numéricos y estructurales. Las alteraciones numéricas más frecuentes son las ganancias de los cromosomas 3, 5, 7, 9, 11, 15 y 19, en general asociadas a cariotipos hiperdiploides y buen pronóstico[16,17]. Por el contrario, la hipodiploidía y las pérdidas cromosómicas comportan mal pronóstico[18]. Uno de los principales factores pronósticos adversos es la deleción total o parcial de 13q que se detecta en el 50% de los MM cuando se aplican técnicas de FISH[18]. Las anomalías estructurales más frecuentes, detectables hasta en el 75% de los MM, afectan al gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (IgH) situado en 14q32, y probablemente sea uno de los eventos oncogénicos más precoces en las gammapatías monoclonales. 14q32 puede translocarse a cualquier cromosoma, siendo los más frecuentes 11q13 (disregulación de la ciclina D1), 4p16 (disregulación de fgfr3) y 16q23 (c-maf)[19]. Las mutaciones del oncogén *ras* pueden detectarse en el 30% de MM, y se asocian con fases avanzadas de la enfermedad. Las mutaciones de p53 se encuentran en el 3-20% de los casos. También se ha descrito hipermetilación de proteínas reguladoras del ciclo celular, como p15 y p16, que comportan una inactivación de genes[5].

La tecnología de los *microarrays* permite estudiar miles de genes en una sola hibridación, y analizar los diferentes patrones de expresión génica con la ayuda de potentes sistemas informáticos. El perfil de expresión génica permite estudiar los genes activos desde el punto de vista transcripcional en las diferentes fases de la enfermedad (célula plasmática normal, GMSI, MM) y diferenciar subtipos de MM con diferente pronóstico. Con toda probabilidad, el patrón de expresión génico permitirá, en un futuro próximo, predecir la respuesta a un determinado tratamiento[20].

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

El dolor óseo constituye la manifestación inicial en el 70% de los casos[21,22]. Generalmente, se localiza en la columna vertebral y en la parrilla costal, y con menor frecuencia, en las extremidades. El dolor es de características mecánicas, exacerbándose con los movimientos. La altura del paciente acostumbra a disminuir a lo largo de la evolución, debido a aplastamientos vertebrales. Un tercio de los pacientes presenta un síndrome anémico. Una quinta parte de los enfermos presenta pérdida de peso. La fiebre debida al propio mieloma es excepcional (1% de los casos), y cuando se presenta, suele deberse a un proceso infeccioso intercurrente. En algunos pacientes, la manifestación inicial es una neumonía, en general neumocócica. En alrededor del 10% de los casos se constatan plasmocitomas extramedulares en el momento del diagnóstico. La manifestación más grave de un plasmocitoma extramedular es la compresión de la médula espinal, con paraparesia o paraplejía que requiere un tratamiento urgente. Los plasmocitomas intracraneales y la leptomeningi-

tis mielomatosa son complicaciones neurológicas raras del MM. Los síntomas iniciales también pueden deberse a hipercalcemia o a insuficiencia renal. El 20% de los pacientes presenta hepatomegalia, y menos del 5%, esplenomegalia. Alrededor del 5% de los pacientes con MM tienen amiloidosis asociada, cuyas manifestaciones pueden ser debidas a síndrome nefrótico, insuficiencia cardíaca congestiva, síndrome del túnel carpiano, polineuropatía periférica o hipotensión ortostática. En la tabla 31.1 se recogen las principales manifestaciones clínicas del MM.

TABLA 31.1

Principales manifestaciones clínicas del mieloma múltiple

Datos clínicos	(%)
Dolores óseos	70
Síndrome anémico	30
Pérdida de peso	25
Infección	10
Fiebre no infecciosa	1
Hepatomegalia	13
Esplenomegalia	4
Plasmocitomas extraóseos	10

DATOS DE LABORATORIO

Los principales datos analíticos se resumen en la tabla 31.2. Una tercera parte de los pacientes presenta una cifra de hemoglobina inferior a 9 g/dL, mientras que las cifras de leucocitos y plaquetas acostumbran a ser normales. Una quinta parte de los pacientes presenta hipercalcemia. Entre el 20 y el 25% de los enfermos tienen una cifra de creatinina superior a 2 g/dL. Alrededor del 10% de los pacientes que se diagnostican de MM en un hospital general tienen una insuficiencia renal que requiere tratamiento sustitutivo con diálisis. Las principales causas de insuficiencia renal son la hipercalcemia y el llamado «riñón del mieloma». El «riñón del mieloma» se caracteriza por el depósito de cilindros compuestos por cadenas ligeras en los túbulos distales y colectores. La formación de estos cilindros se correlaciona con la cuantía de la excreción de cadenas ligeras y con la gravedad de la insuficiencia renal. La deshidratación y la hipercalcemia son los factores que, con mayor frecuencia, desencadenan una insuficiencia renal. En el aspirado de médula ósea suele encontrarse una infiltración medular por células plasmáticas superior al 20% (fig. 31.1). El proteinograma electroforético revela una banda homogénea en el 85% de los casos. En el 15% restante, la electroforesis sérica es normal o muestra sólo una pequeña banda (mielomas de cadenas ligeras, algunos casos de mieloma IgG o IgA con escaso componente M y los raros casos de mieloma IgD o no secretor). En la mitad de los casos se encuentra proteinuria de cadenas ligeras. El estudio cualitativo de las inmunoglobulinas por inmunofijación resulta imprescindible para identificar la clase de inmunoglobulina que se produce en exceso, y confirmar su carácter monoclonal. La distribución del MM según el tipo de inmunoglobulina es la siguiente: IgG (50-60%), IgA (20-30%), cadenas ligeras –Bence Jones puro– (15%), IgD (2%), no secretor (1-2%); los tipos IgE e IgM son excepcionales. La relación de cadenas ligeras kappa:lambda es de 2:1. En la tabla 31.3 se recoge la distribución según el tipo de cadena pesada y ligera. Las manifestaciones clínicas de los mielomas IgG e IgA son muy similares. Sin embargo, los mielomas de cadenas ligeras e IgD son muy parecidos desde un punto de vista clínico y biológico, y presentan con mayor frecuencia insuficiencia renal, hipercalcemia y amiloidosis, así como una mayor cuantía en la proteinuria de cadenas ligeras, que los tipos IgG e IgA[23]. En este sentido, el mieloma IgD es superponible al mieloma de Bence Jones. En realidad, los únicos datos diferenciales entre el mieloma IgD y el Bence

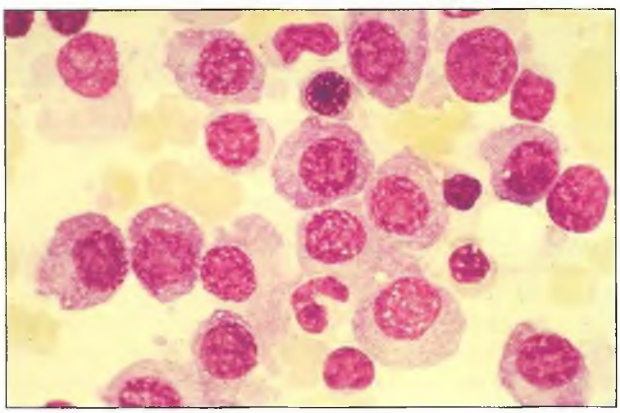


Figura 31.1. Aspirado de médula ósea en un caso de mieloma múltiple: se observa una infiltración prácticamente absoluta por células plasmáticas.

TABLA 31.2

Principales parámetros hematológicos y bioquímicos del mieloma múltiple

Parámetro	(%)
Hemoglobina < 90g/L	35
Plaquetas < 100 × 10^9/L	10-15
Células plasmáticas en médula ósea > 40%	60
Creatinina ≥ 2 mg/dL	20-25
Calcio ≥ 11,5 mg/dL	15-20

TABLA 31.3

Distribución del mieloma múltiple según el tipo inmunológico

Tipo	(%)
IgG	55
IgA	25-30
Bence Jones	15
IgD	2
Biclonal	2
No secretor	1
IgM	0,5

Jones son la inversión de la relación de cadenas ligeras kappa:lambda (1:2 en el IgD, 2:1 en el Bence Jones) y la presencia de un componente M sérico de tipo IgD, que suele ser de escasa cuantía[23].

El 70% de los pacientes tienen lesiones osteolíticas con o sin osteoporosis en el momento del diagnóstico, y otro 10% presenta osteoporosis intensa[21,22]. Las vértebras, calota craneal, caja torácica, pelvis, húmeros y fémures son las localizaciones que se afectan con mayor frecuencia (fig. 31.2). Las lesiones osteoscleróticas se observan únicamente en el 1% de los casos. La gammagrafía ósea con tecnecio-99 no es útil en el estudio de los pacientes con mieloma. La tomografía computarizada (TC) o la resonancia magnética (RM) pueden ser de utilidad en los pacientes con dolores óseos sin alteraciones visibles en la radiología ósea convencional (fig. 31.3).

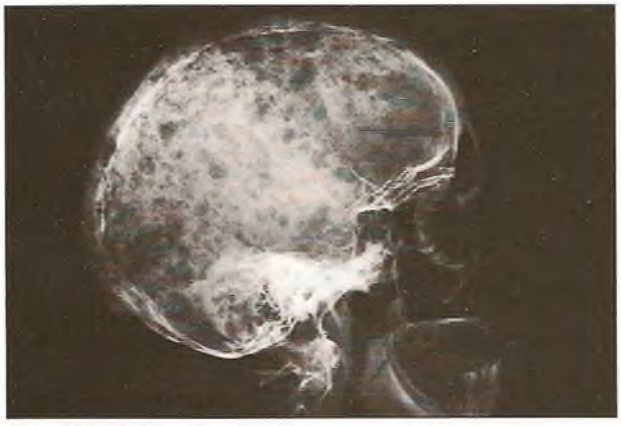


Figura 31.2. Lesiones osteolíticas en cráneo características de mieloma múltiple.

Figura 31.3. Resonancia magnética de columna vertebral en un paciente con mieloma múltiple y dolor dorsal sin evidencia de osteólisis en la radiografía convencional. Obsérvese un nódulo mielomatoso sólo demostrable por RM.

DIAGNÓSTICO Y DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

En la tabla 31.4 se exponen las pruebas que se deben efectuar a los pacientes en los que se sospecha un MM. El diagnóstico de MM no acostumbra a ofrecer dudas, ya que la mayoría de los pacientes presentan síntomas propios de la enfermedad y anomalías de laboratorio, incluyendo la siguiente tríada: *a*) componente M sérico y/o urinario; *b*) proporción de células plasmáticas superior al 10%, y *c*) lesiones osteolíticas. Los criterios mínimos para el diagnóstico de MM se exponen en la tabla 31.5. El diagnóstico diferencial se plantea con la GMSI, el mieloma quiescente (MQ), la amiloidosis primaria (AL) y el carcinoma metastásico. Los pacientes con un componente M sérico inferior a 30 g/L y una proporción de células plasmáticas en la médula ósea inferior al 10%, sin lesiones osteolíticas, anemia, hipercalcemia, insuficiencia renal, plasmocitomas extramedulares ni síntomas atribuibles a la gammapatía monoclonal tienen una GMSI[3]. Los pacientes asintomáticos con un componente M superior a 30 g/dL y más del 10% de células plasmáticas cumplen los criterios diagnósticos de mieloma quiescente[24]. Los niveles de inmunoglobulinas policlonales están disminuidos en el 75% de los pacientes con MM; sin embargo, este parámetro no es útil en el diagnóstico diferencial, ya que las inmunoglobulinas policlonales también están disminuidas en una cuarta parte de los sujetos con GMSI. No existe ningún parámetro clínico ni analítico que permita diferen-

TABLA 31.4

Pruebas a realizar en un paciente con mieloma múltiple

1. Historia clínica, exploración física y valoración grado afección estado general (ECOG)
2. Radiografía posteroanterior y lateral de tórax
3. Hemograma, glucemia, creatinina, ácido úrico, calcio, ionograma, ASAT, ALAT, fosfatasa alcalina, LDH, albúmina, β_2-microglobulina y proteína C reactiva
4. Proteínas totales, proteinograma electroforético, proteinuria de 24 horas, uroproteinograma, dosificación de inmunoglobulinas e inmunofijación sérica y urinaria
5. Aspirado de médula ósea con fase de síntesis y estudio citogenético
6. Seriada esquelética
7. Viscosidad plasmática si componente M sérico > 50 g/L
8. Resonancia magnética o TC si se sospecha compresión de la médula espinal o de raíces nerviosas
9. Punción grasa subcutánea si se sospecha amiloidosis (tinción rojo Congo e inmunohistoquímica)
10. Estudio HLA si el paciente tiene menos de 55 años y tiene hermanos

TABLA 31.5

Criterios diagnósticos mínimos de mieloma múltiple

Presencia de > 10% de células plasmáticas en médula ósea* o demostración de un plasmocitoma, más uno de los siguientes criterios:
- Componente M sérico ≥ 30 g/L
- Presencia de cadenas ligeras en orina
- Lesiones osteolíticas (no atribuible a otra causa)

*Excluir que la plasmocitosis sea únicamente debida a procesos que cursan con un incremento de células plasmáticas en médula ósea (enfermedades inflamatorias crónicas, infecciones crónicas, hepatopatías).

ciar con seguridad una GMSI de un MM en fase inicial. Los límites entre la AL y el MM son arbitrarios, ya que ambos procesos son trastornos plasmoproliferativos con distintas manifestaciones clínico-biológicas. En la amiloidosis primaria, la proporción de células plasmáticas en la médula ósea suele ser inferior al 20%, no existen lesiones osteolíticas y la proteinuria de cadenas ligeras no acostumbra a ser masiva. No obstante, cuando las manifestaciones clínicas son las propias de la amiloidosis primaria y no existen osteólisis, hay que considerar que un paciente tiene una amiloidosis primaria, y debe tratarse como tal, aunque la proporción de células plasmáticas en la médula ósea sea superior al 20% y exista una considerable eliminación de cadenas ligeras por la orina. En los pacientes que presentan múltiples lesiones líticas y que no tienen componente monoclonal sérico ni urinario, se debe efectuar un exhaustivo estudio inmunohistoquímico de las supuestas células plasmáticas, al objeto de excluir la existencia de un carcinoma metastásico, antes de aceptar el diagnóstico de mieloma no secretor. Por otro lado, en un paciente con síntomas constitucionales y lesiones osteolíticas, con un pequeño componente M sérico y menos del 10% de células plasmáticas en la médula ósea, el diagnóstico más probable es el de un carcinoma metastásico coincidente con una GMSI.

FACTORES PRONÓSTICOS

La media de supervivencia de los pacientes con MM se sitúa entre 2 y 3 años. Sin embargo, la supervivencia varía mucho de unos enfermos a otros, ya que mientras algunos fallecen poco después del diagnóstico, otros gozan de una supervivencia superior a los 5 años y una minoría sobreviven 10 o más años[25]. Ello hace que resulte de gran utilidad poder disponer, ya en el momento del diagnóstico, de factores pronósticos que permitan predecir la evolución de los enfermos, para poder efectuar una mejor aproximación terapéutica.

Carbone et al[26] publicaron, hace más de 30 años, el primer estudio sobre factores pronósticos en el MM, entre los que se aislaron la cifra de hemoglobina, la calcemia, la función renal y el grado de afección del estado general. Otros factores que también han mostrado valor pronóstico en distintos estudios son: cifra de albúmina sérica, extensión de la afección esquelética, recuento de plaquetas y edad[25]. Con todo, el factor pronóstico más importante es la sensibilidad de la clona mielomatosa a los citostáticos. En un estudio llevado a cabo en nuestro medio, la respuesta al tratamiento se asoció con una prolongación significativa de la supervivencia, y en el análisis de regresión múltiple emergió como el factor pronóstico más importante[27]. Una noción clásica es la de que una respuesta rápida al tratamiento se asocia con una recaída precoz y con una corta supervivencia. Hoy sabemos que los enfermos que, con un índice de proliferación tumoral bajo, responden con rapidez al tratamiento cistostático tienen muy buen pronóstico, ya que en estos casos la respuesta rápida se debe exclusivamente a la exquisita sensibilidad de la clona mielomatosa a los citostáticos. Por el contrario, si el índice de proliferación celular es alto una respuesta rápida se asocia con recaída temprana y mal pronóstico[28].

En 1975, Durie y Salmon[29] propusieron un sistema de clasificación por estadios, cuya validez pronóstica no se ha podido reproducir por completo (tabla 31.6). El *status* citogenético se considera hoy día como uno de los principales factores pronósticos. Así, serían pacientes de alto riesgo los que

TABLA 31.6

Clasificación por estadios del mieloma

Estadio	Criterio	Masa tumoral*
I	Todos los siguientes: 1. Hemoglobina superior a 10 g/100 mL 2. Calcemia normal 3. Radiología ósea normal 4. Alguno de ellos: *a*) IgG inferior a 5 g/100 mL *b*) IgA inferior a 3 g/100 mL *c*) Eliminación de cadenas ligeras en orina menor de 4 g/24 h	Baja (< 0,6)
II	No clasificable en estadios I y III	Intermedia (0,6-1,2)
III	Uno o más de los siguientes: 1. Hemoglobina inferior a 8,5 g/100 mL 2. Calcemia corregida superior a 11,5 mg/100 mL 3. Lesiones óseas avanzadas (escala 3) 4. Alguno de ellos: *a*) IgG superior a 7 g/100 mL *b*) IgA superior a 5 g/100 mL *c*) Cadenas ligeras orina > 12 g/24 h	Alta (> 1,2)
Subclasificación:	A: creatinina en plasma inferior a 2 mg/100 mL B: creatinina en plasma igual o superior a 2 mg/100 mL	
Calcemia corregida:	calcemia – cifra albúmina sérica (g/100 mL) + 4	

*× 10^{12} células/m^2.
Escala 3: lesiones líticas en 4 o más regiones óseas y/o fractura patológica no vertebral ni costal. Se definen 6 regiones óseas: cráneo, columna, extremidades superiores e inferiores, pelvis y caja torácica (cintura escapular, costillas).

presentan la t(4;14)(p16;q32), t(14;16)(q32;q23) y la deleción de 17p13, asociadas con una corta supervivencia, mientras que la presencia de la t(11;14)(q13;q32) comportaría buen pronóstico. Los pacientes con la deleción total o parcial del cromosoma 13 constituirían el grupo de riesgo intermedio. Otras alteraciones citogenéticas asociadas a mal pronóstico son las alteraciones del cromosoma 1, la deleción del cromosoma 22 o la hipodiploidía. Por el contrario, las trisomías de los cromosomas 9, 11 y 17 se asocian con buen pronóstico[30].

Con los datos de 11.171 pacientes de América, Asia y Europa se ha creado un Índice Pronóstico Internacional basándose en la determinación de los niveles de β_2-microglobulina y albúmina (tabla 31.7). Este sistema permite discriminar tres grupos pronósticos independientemente de la edad, región geográfica o tipo de tratamiento (quimioterapia convencional o trasplante), con la ventaja de que se basa en parámetros fácilmente cuantificables en cualquier laboratorio[30].

TABLA 31.7

Índice Pronóstico Internacional (IPI) para mieloma

Estadio		Supervivencia media (meses)
I	β-2-m < 3,5 mg/dL y albúmina ≥ 3,5 g/dL	62
II	β-2-m < 3,5 mg/dL y albúmina < 3,5 g/dL o β-2-m 3,5-5,5 mg/dL	44
III	β-2-m > 5,5 mg/dL	29

TRATAMIENTO

Un concepto importante que se debe tener en cuenta es que los pacientes con mieloma quiescente no deben recibir tratamiento hasta que presenten datos inequívocos de progresión de la enfermedad.

La valoración de la respuesta terapéutica en los pacientes con MM es difícil, ya que con quimioterapia convencional casi nunca se consiguen remisiones completas sino diversos grados de remisión parcial. Los criterios de respuesta propuestos por el comité del Chronic Leukemia-Myeloma Task Force son los más empleados, y el parámetro fundamental de valoración es la disminución del componente M sérico y/o urinario igual o superior al 50%[31]. Los criterios del Southwest Oncology Group (SWOG)[32], que requieren una disminución de la síntesis del componente M igual o superior al 75% son menos utilizados. Un concepto de respuesta que se emplea con frecuencia creciente es el de fase de meseta estable. Un paciente está en esta fase cuando, tras varios ciclos de quimioterapia, ha mejorado clínicamente y se ha producido una disminución del componente monoclonal, que ya no desciende más a pesar de que se continúe administrando tratamiento con quimioterapia. Si un paciente permanece 4 meses en esta situación, se acepta que está en fase de meseta y, en este momento, se puede suspender el tratamiento inicial[33]. Con la introducción de tratamientos más intensivos, en particular la quimioterapia en dosis elevadas seguida de rescate con progenitores hematopoyéticos de sangre periférica, se alcanza un mayor grado de respuesta, con una proporción de pacientes que alcanzan una inmunofijación negativa del 25-40%. Ello ha conducido a la propuesta de modificación de los criterios de respuesta, en la que se conjugan los criterios del Chronic Leukemia-Myeloma Task Force y los del SWOG, se define la remisión completa y se establecen los criterios de progresión y de recaída[34]. El cambio más importante consiste en la introducción de la definición de remisión completa como la desaparición del componente monoclonal por inmunofijación, junto con una proporción de células plasmáticas en médula ósea inferior al 5%[34].

Tratamiento citostático inicial

Antes de disponer de los agentes alquilantes, la media de supervivencia de los pacientes con MM era inferior a un año. La introducción del melfalán representó el primer avance en el tratamiento de esta enfermedad. En los últimos 30 años se han publicado numerosos trabajos en los que se han empleado el melfalán o la ciclofosfamida, bien aislados o combinados con prednisona. La proporción de respuestas se sitúa alrededor del 50%, y la media de supervivencia desde el inicio del tratamiento oscila entre 2 y 3 años[35]. Estos resultados, altamente insatisfactorios, se han intentado mejorar empleando pautas poliquimioterápicas en las que se combinan los agentes alquilantes con vincristina y prednisona, con o sin adriamicina. Con estas pautas se consigue un incremento en la tasa de respuestas, pero en general no se consigue una prolongación significativa de la supervivencia en comparación con el tratamiento con melfalán y prednisona. En este sentido, son demostrativos los resultados del estudio llevado a cabo por el grupo cooperativo PETHEMA en una serie compuesta por 487 pacientes en el que se comparó la eficacia del tratamiento poliquioterápico a base de ciclos alternantes de VCMP (vincristina, ciclofosfamida, melfalán y prednisona) y VBAP (vincristina, BCNU, adriamicina y prednisona) frente a MP[36]. El tratamiento inicial con VAD (vincristina y adriamicina en perfusión de 24 horas, junto con dosis altas de dexametasona) produce una elevada tasa de respuestas[37]. Sin embargo, la duración de las mismas es de alrededor de un año y medio, y la supervivencia es similar a la de los pacientes tratados con otros tipos de quimioterapia. Existen dos metaanálisis en los que se compara la eficacia de la poliquimioterapia frente al tratamiento con MP. En el primero de ellos, se analizaron los resultados de 18 estudios publicados en los que se habían incluido 3.814 pacientes[38]. Este estudio sugirió que los pacientes con factores pronósticos favorables se beneficiaban más del tratamiento con MP, mientras que los que tenían factores pronósticos desfavorables, así como el tipo IgA, se beneficiaban más del tratamiento poliquimioterápico. Sin embargo, el segundo metaanálisis, efectuado utilizando los datos individuales de cada uno de los 6.633 pacientes incluidos en 27 estudios, no mostró ninguna diferencia entre la supervivencia de los pacientes tratados con poliquimioterapia y los que recibieron tratamiento con melfalán y prednisona[39]. A mayor abundamiento, en este estudio no se identificó ningún subgrupo de pacientes que evolucionara mejor con un tratamiento u otro. En las tablas 31.8 y 31.9 se resumen los esquemas de quimioterapia más empleados en el tratamiento del MM.

TABLA 31.8

Pauta terapéutica de melfalán y prednisona*

Melfalán	0,25 mg/kg v.o. días 1-4
Prednisona	60 mg/m^2 v.o. días 1-4
Cada 4-6 semanas según tolerancia hematológica	

*En los pacientes de edad muy avanzada y en los que presentan neutropenia y/o plaquetopenia se iniciará el tratamiento con melfalán a dosis 2/3.

TABLA 31.9

Pautas poliquimioterápicas más utilizadas en el mieloma múltiple

Poliquimioterapia VCMP/VBAP (ciclos alternantes cada 4 semanas)

VCMP	VBAP
Vincristina 1 mg i.v. día 1	Vincristina 1 mg i.v. día 1
Ciclofosfamida 500 mg/m^2 i.v. día 1	BCNU 30 mg/m^2 i.v. día 1
Melfalán 6 mg/m^2 días 1-4	Adriamicina 30 mg/m^2 i.v. día 1
Prednisona 60 mg/m^2 v.o. días 1-4	Prednisona 60 mg/m^2 v.o. días 1-4

Protocolo M-2 o VBMCP (cada 5 semanas)
- Vincristina 0,03 mg/kg (máx.: 2 mg) i.v. día 1
- BCNU 0,5 mg/kg i.v. día 1
- Melfalán 0,25 mg/kg v.o. días 1-4
- Ciclofosfamida 10 mg/kg i.v. día 1
- Prednisona 1 mg/kg v.o. días 1-4, 0,5 mg/kg días 5-8 y 0,25 mg/kg días 9-12

VAD (cada 4 semanas)
- Vincristina 0,4 mg/día en perfusión continua días 1-4
- Adriamicina 9 mg/m^2/día en perfusión continua días 1-4
- Dexametasona 40 mg v.o. días 1-4 y 9-12

VBAD (cada 4 semanas)
- Vincristina 1 mg i.v. día 1
- BCNU 30 mg/m^2 i.v. día 1
- Adriamicina 30 mg/m^2/día i.v. día 1
- Dexametasona 40 mg v.o. días 1-4 y 9-12

Tratamiento de mantenimiento

La mayoría de pacientes con MM que responden al tratamiento inicial entran en la denominada fase de meseta, caracterizada por un período de estabilidad clínica y biológica en el que la masa tumoral permanece estable, a pesar de la persistencia del componente monoclonal y de células plasmáticas mielomatosas en la médula ósea. Una vez se ha alcanzado esta fase, el tratamiento de mantenimiento con quimioterapia no es útil. Por otro lado, la continuación del tratamiento alquilante puede dar lugar a la aparición de un síndrome mielodisplásico o a una leucemia aguda secundaria[40]. Clínica y biológicamente, la fase de meseta remeda el estado quiescente de la GMSI. Sin embargo, la diferencia fundamental entre el MM en fase de meseta y la GMSI es que todos los pacientes con MM acaban recayendo, mientras que únicamente una cuarta parte de los individuos con GMSI terminará evolucionando a MM. El fármaco más prometedor en el tratamiento de mantenimiento del MM ha sido el interferón. Sin embargo, los resultados de dicho tratamiento son controvertidos. La mayoría de estudios ha mostrado una prolongación significativa, aunque modesta –incremento entre 5 y 12 meses–, de la duración de la respuesta[41]. En otras series, el tratamiento de mantenimiento con interferón no tuvo una influencia en la duración de la respuesta[41]. Lamentablemente, en la mayoría de estudios no se ha podido demostrar una prolongación significativa de la supervivencia. Con todo, en tres series el mantenimiento con interferón se asoció con una prolongación de la supervivencia[41]. Estos resultados discordantes han llevado a la práctica de un metaanálisis basado en el análisis de los datos individuales de 1.543 pacientes incluidos en 12 estudios aleatorizados entre tratamiento de mantenimiento con interferón frente a abstención terapeútica[42]. Si bien modestas, la duración de la respuesta y la supervivencia global fueron más prolongadas en los enfermos que recibieron tratamiento de mantenimiento con interferón. Al plantearse este tratamiento debe considerarse el coste/beneficio, y tener en cuenta que en el 30% de los casos se ha de disminuir la dosis y en un 20% se debe suspender la medicación por toxicidad, al objeto de no interferir con la calidad de vida del paciente. La dosis habitual de interferón como tratamiento de mantenimiento en el MM es de 3 millones de unidades por vía subcutánea, tres veces por semana, dosis que se debe disminuir en caso de toxicidad clínica o hematológica.

Tratamiento de las recaídas

En los pacientes que recaen una vez suspendido el tratamiento, la tasa de respuestas cuando se administra de nuevo el tratamiento inicial se sitúa en el 50-70%[43,44]. Sin embargo, la duración de las mismas disminuye con las recaídas sucesivas. Así, en un estudio, la duración media de las primeras, segundas y terceras respuestas fueron de 22, 11 y 6 meses, respectivamente[44]. La supervivencia media desde la recaída es de alrededor de un año. En pacientes con mieloma en recaída sensible a la quimioterapia, la intensificación con autotrasplante constituye la mejor opción terapéutica, siempre que lo permitan la edad y las condiciones del paciente.

Tratamiento del mieloma primariamente resistente

La supervivencia media de los pacientes con MM primariamente resistente a la quimioterapia es de 15 meses. Se ha sugerido que, en esta situación, el tratamiento de rescate más eficaz es el autotrasplante[45,46]. Sin embargo, para interpretar correctamente estos datos deben analizarse por separado los dos grupos de pacientes considerados como primariamente refractarios, es decir, los pacientes refractarios con enfermedad estable y los pacientes refractarios con enfermedad progresiva. Los resultados preliminares del grupo español PETHEMA/GEM en 49 pacientes refractarios a la quimioterapia inicial y que, posteriormente, fueron intensificados con autotrasplante muestran que los 20 pacientes refractarios con enfermedad progresiva presentan una supervivencia signifi-

cativamente más corta que los 29 pacientes refractarios estables. De hecho, este último subgrupo de pacientes tiene una supervivencia global similar a la de los pacientes quimiosensibles. Cuando el autotrasplante no es factible, el tratamiento con VAD o con dosis elevadas de dexametasona produce una tasa de respuestas de alrededor del 25%. En la experiencia del grupo PETHEMA, la respuesta al tratamiento con VBAD fue superior en los pacientes primariamente resistentes en comparación con los que presentaron una recaída resistente a los agentes alquilantes (48 frente a 24%)[47].

Tratamiento del mieloma resistente a los agentes alquilantes

Los resultados del tratamiento en los pacientes con MM que presentan una recaída resistente a los agentes alquilantes son malos. El tratamiento con VBAP o VBAD produce el 25 y el 35% de respuestas, respectivamente[47-49]. La mayor tasa de respuestas ha sido referida después de recibir tratamiento con VAD (perfusión continua durante 4 días de vincristina y adriamicina, asociadas con dosis elevadas de dexametasona)[50]. Los inconvenientes del tratamiento con VAD radican en la necesidad de la colocación de una vía central, y una toxicidad significativa debido al tratamiento con glucocorticoides, particularmente en forma de infecciones y miopatía esteroidea. Nuestra actitud en los pacientes con MM resistente a los alquilantes consiste en tratamiento con VBAD, administrando la dexametasona los días 1-4 y 9-12 de cada ciclo. La administración de quimioterapias más intensivas que el VAD o el VBAD, generalmente administrada con factores de crecimiento, produce una tasa de respuestas elevada, pero la duración de las mismas es muy limitada. Dichos regímenes producen una intensa granulocitopenia que, muchas veces, se complica con infecciones y, globalmente, tienen un elevado coste. Estos tratamientos sólo estarían indicados para disminuir de forma rápida la masa tumoral en pacientes en los que, en caso de respuesta, son candidatos a un tratamiento intensivo seguido de trasplante autólogo o alogénico. A finales de la década de 1990 se introdujo con éxito la talidomida para el tratamiento del MM resistente o en recaída, con una tasa de respuestas que oscila entre el 30 y el 40%[51]. El hecho de que el mecanismo de acción de la talidomida sea diferente al de la quimioterapia convencional ha abierto nuevas vías de investigación en el tratamiento del MM. Entre los fármacos más prometedores destacan los IMiD (fármacos inmunomoduladores derivados de la talidomida) y el bortezomib. Estos fármacos se comentarán con detalle más adelante en este capítulo. Como se menciona en el siguiente apartado, el tratamiento intensivo seguido de autotrasplante no está indicado en los pacientes con mieloma en recaída resistente. En los pacientes con MM resistente a las estrategias terapéuticas actualmente existentes (agentes alquilantes, regímenes basados en dexametasona –VAD o VBAD–, quimioterapia en dosis elevadas/rescate con progenitores hematopoyéticos), así como aquéllos en los que estos tratamientos no son factibles (edad muy avanzada, afección grave del estado general, pancitopenia) se recomienda un tratamiento conservador basado en una dosis de ciclofosfamida i.v. (800 a 1.200 mg) cada 3 semanas junto con prednisona (30 a 50 mg) por vía oral en días alternos. Aunque este tratamiento produce respuestas objetivas en muy pocos pacientes, constituye un excelente tratamiento paliativo que puede controlar temporalmente la enfermedad, con una toxicidad muy baja[52].

Trasplante de progenitores hematopoyéticos

La limitada eficacia del tratamiento convencional ha propiciado el empleo de tratamientos más intensivos que incluyen quimioterapia en dosis elevadas, seguida de rescate con progenitores hematopoyéticos.

El primer trasplante en un paciente con MM se efectuó a partir de un donante gemelo univitelino (trasplante singénico). Los resultados del EBMT en 25 pacientes con MM sometidos a un trasplante singénico mostraron una mortalidad muy baja y una supervivencia media libre de progresión y supervivencia global superior a los 5 años[53]. Si un paciente con MM dispone de un hermano gemelo univitelino, el tratamiento de elección consiste en un trasplante singénico, siempre que la edad y situación clínica del paciente lo permitan.

En cuanto al trasplante alogénico, las limitaciones de edad y de disponibilidad de donante son motivo de que este tipo de trasplante sólo sea aplicable a una minoría de enfermos (el 15% de los enfermos con MM tiene menos de 50 años y sólo un tercio de éstos dispone de un hermano HLA idéntico). La proporción de remisiones completas se sitúa en el 40-60%[54]. Sin embargo, la mortalidad durante el primer año postrasplante se sitúa entre el 30 y el 50%[55]. Por otra parte, la probabilidad actuarial de recaída a los 5 años del trasplante en los pacientes que alcanzaron la remisión completa es del 45% y, lamentablemente, en las series que disponen de mayor seguimiento no existe meseta de supervivencia[54]. En las series publicadas hasta la fecha, la proporción de largos períodos de supervivencia, posiblemente pacientes curados con el trasplante alogénico, se sitúa entre el 10 y el 20%[54,55]. Estos resultados se están intentando mejorar con el denominado «mini-alotrasplante» o trasplante con acondicionamiento de intensidad reducida (TIR). Este tipo de trasplante consiste en administrar una dosis reducida de quimioterapia, que no produce un efecto mieloablativo, con la finalidad de disminuir la mortalidad asociada a la toxicidad por el régimen de acondicionamiento[56]. El régimen de acondicionamiento más empleado consiste en la administración de fludarabina y melfalán. La tasa de respuestas completas obtenidas se sitúa en torno al 22 y al 44%, con una mortalidad asociada al procedimiento del 20%[57-59]. Una estrategia utilizada por varios grupos[60-62] consiste en disminuir la carga tumoral con un autotrasplante y, posteriormente, realizar un TIR. Con ello se obtiene una elevada tasa de remisiones completas (73%) y una mortalidad asociada al procedimiento inferior al 20%. La principal complicación de este tipo de trasplantes es la EICH aguda o crónica, que afecta al 45 y al 55% de pacientes, respectivamente[62], así como una elevada tasa de infecciones fúngicas y la reactivación de infecciones víricas.

El trasplante autólogo a partir de progenitores obtenidos de sangre periférica puede aplicarse a un mayor número de pacientes, ya que no se precisa donante y la edad se puede ampliar hasta los 65 años. Con este tipo de trasplante se logran tasas de respuesta de hasta el 80%, y lo que es más importante, el 25-40% de remisiones completas por inmunofijación[63]. Por otra parte, la mortalidad relacionada con el procedimiento es inferior al 5%. La obtención de la RC constituye el hecho crucial que determina la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global[63]. El tratamiento de

intensificación consiste en dosis elevadas de melfalán. Una situación en la que el autotrasplante parece superior a la quimioterapia convencional es la de los pacientes en recaída sensible a la quimioterapia[64]. Por otra parte, tres estudios han demostrado que los pacientes que responden a la quimioterapia y elegibles para autotrasplante, pero que por motivos diversos no reciben dicho tratamiento, tienen una supervivencia similar a la de los pacientes intensificados con autotrasplante[45,65,66]. Existen varios estudios caso-control en los que el autotrasplante se ha mostrado superior a la quimioterapia convencional[67-69]. Un aspecto que genera incertidumbre al interpretar este tipo de estudios es que, a pesar de un cuidadoso análisis estadístico, siempre puede existir un inevitable sesgo en favor de los pacientes que, finalmente, son sometidos al tratamiento más intensivo[65]. Los resultados de 5 estudios aleatorizados en los que se compara la intensificación con autotrasplante frente a la quimioterapia convencional tampoco son concluyentes. Así, en los estudios del intergrupo francés (IFM)[70] y el Medical Research Council (MRC) del Reino Unido[71], el autotrasplante fue superior a la quimioterapia en cuanto a supervivencia libre de progresión y supervivencia global, mientras que los estudios del grupo español (PETHEMA)[72], francés (MAG)[73] e Intergrupo Americano[74] no encuentran diferencias significativas entre ambos grupos. Un aspecto en el que el autotrasplante es superior a la quimioterapia es en la obtención de una mayor tasa de RC por inmunofijación (40 frente a 10%)[72,75]. Se ha sugerido que sólo aquellos pacientes que obtienen una RC se benefician del autotrasplante[66,75]. Por tanto, es de gran interés identificar al subgrupo de pacientes que tiene una elevada probabilidad de obtener una RC con el autotrasplante. En este sentido, existen dos estudios que señalan la quimiosensibilidad al tratamiento quimioterápico previo como el factor determinante para obtener una RC postrasplante[75,76]. A pesar de que los resultados de los diferentes estudios no son concluyentes, hoy día se considera el autotrasplante como el tratamiento estándar del MM en primera línea. De hecho, con la finalidad de mejorar los resultados, algunos grupos han propuesto la realización de dos autotrasplantes consecutivos (trasplante en tándem). Según un estudio aleatorizado del IFM recientemente publicado, el trasplante en tándem incrementa la supervivencia libre de progresión y la supervivencia global cuando se compara con los pacientes que reciben un solo trasplante[77]. Sin embargo, en ninguno de los otros tres estudios aleatorizados que se están llevando a cabo se demuestra que el trasplante en tándem sea superior a un único trasplante en términos de supervivencia global[78-80].

Nuevos fármacos

A pesar del tratamiento quimioterápico y la intensificación con trasplante de progenitores hematopoyéticos, el MM continúa siendo una enfermedad incurable. Con el tiempo, la práctica totalidad de los pacientes recaen, desarrollan una enfermedad quimiorresistente y fallecen a consecuencia de la enfermedad. La introducción de nuevos agentes que actúan no sólo sobre la célula plasmática sino también sobre el microambiente medular a través de mecanismos de acción diferentes a los de la quimioterapia convencional ha significado un importante paso adelante en el tratamiento del MM. No obstante, la mayoría de estos fármacos se encuentran aún en fase de investigación, y su papel en el tratamiento del MM todavía está por definir.

Talidomida

La talidomida es un fármaco antiangiogénico e inmunomodulador, con actividad antimielomatosa, si bien no se conoce con exactitud su mecanismo de acción. Cuando se utiliza como agente único en pacientes con MM refractario o en recaída, se obtiene una tasa de respuestas del 40%[81], mientras que asociada con dexametasona o con otros fármacos citotóxicos se obtienen entre el 50 y el 60% de respuestas[81]. En nuestra experiencia, la talidomida no es eficaz en los pacientes con plasmocitomas extramedulares. De hecho, ninguno de los 11 pacientes con plasmocitomas extramedulares de nuestra serie respondieron a la talidomida, frente al 60% de respuestas en los 27 pacientes sin plasmocitomas[82]. Esta observación reviste especial interés si se tiene en cuenta que cerca de un tercio de los pacientes presentará plasmocitomas extramedulares a lo largo de la evolución de su enfermedad. La combinación de dexametasona y talidomida como tratamiento de primera línea ha dado resultados muy esperanzadores, con una tasa de respuestas de entre el 64[83] y el 72%[84], con un 16% de respuestas completas[84]. Actualmente, están en marcha dos estudios aleatorizados de fase III en los que se compara dexametasona sola frente a dexametasona y talidomida, como tratamiento inicial del MM. Con la combinación de melfalán, prednisona y talidomida se ha referido un 90% de respuestas, con un 22% de remisiones completas[85].

Los efectos secundarios más frecuentes son sedación, constipación y astenia, que afectan al 60% de los pacientes. Con menor frecuencia, pueden presentarse erupciones cutáneas, temblores, edema o cardiotoxicidad en forma de bradiarritmias o bloqueos auriculoventriculares. El 30% de los pacientes presenta neuropatía periférica, que puede ser irreversible, por lo que debe vigilarse de cerca a estos pacientes, y suspender el tratamiento cuando se presenten los primeros síntomas. Los pacientes con MM inicial tratados con talidomida asociada con dexametasona, adriamicina o melfalán presentan una frecuencia inusualmente elevada de trombosis venosa profunda (10-28%), por lo que se recomienda realizar anticoagulación profiláctica con heparina de bajo peso molecular[83].

Fármacos inmunomoduladores (IMiD)

Los IMiD (del inglés, *immunomodulatory drugs*) son derivados de la talidomida, más potentes que ésta pero con menos efectos secundarios[86]. En estos momentos se están utilizando en la práctica clínica dos fármacos: Revlimid (CC-5013) y Actimid (CC-4047). En estudios en fase I/II en pacientes con MM avanzado se ha obtenido una tasa de respuestas del 38%, con un 6% de respuestas completas con Revlimid[87], y del 54% con un 17% de respuestas completas con Actimid[88], respectivamente. Recientemente, ha finalizado el período de inclusión de pacientes en un amplio estudio en fase III aleatorizado, en el que se compara la eficacia de la dexametasona sola frente a dexametasona y Revlimid en pacientes con MM refractario o en recaída.

Bortezomib

El bortezomib (Velcade®) ha sido aprobado por la FDA y la EMEA para su uso en el MM resistente a dos líneas de tratamiento quimioterápico. Su mecanismo de acción se basa en la inhibición selectiva y reversible del proteasoma. El proteasoma es un complejo enzimático presente en el citoplasma celular encargado de la proteólisis de múltiples proteínas que

intervienen en el crecimiento celular. En estudios en fase II, el bortezomib ha producido unas tasa de respuestas de alrededor del 35% en pacientes con MM resistente a múltiples líneas de tratamiento[89]. Recientemente, ha concluido un estudio en fase III (estudio APEX) aleatorizado de bortezomib frente a dexametasona en 669 pacientes con MM recaído o refractario. Los pacientes tratados con bortezomib obtienen una supervivencia libre de progresión y supervivencia global significativamente superior a los pacientes tratados con dexametasona[90]. Estos resultados han propiciado la puesta en marcha de numerosos ensayos clínicos que investigan la eficacia del bortezomib como tratamiento de primera línea, solo o en combinación con otros fármacos. Los efectos secundarios más frecuentes incluyen náuseas, vómitos, diarreas y astenia (40 a 50%), trombocitopenia (40%), fiebre (20%) y neuropatía periférica o dolor neuropático (30%) que, a diferencia de la que produce la talidomida, es reversible[89].

Tratamiento de las complicaciones

Las infecciones constituyen una causa muy importante de morbilidad y mortalidad en los pacientes con MM. Las complicaciones infecciosas requieren un tratamiento enérgico y precoz, particularmente cuando el paciente se encuentra granulocitopénico después de recibir quimioterapia. Las localizaciones infecciosas más frecuentes son las broncopulmonares y las urinarias. Los agentes etiológicos responsables de las infecciones pulmonares son *Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae* y *Staphylococcus aureus*, mientras que *Escherichia coli, Pseudomonas, Klebsiella* y *Enterobacter* y, en menor grado, *Serratia* y *Proteus*, son los gérmenes gramnegativos causantes de las infecciones urinarias. El espectro bacteriológico de la infección varía según el momento evolutivo del MM. Así, en una primera fase, el neumococo es el agente causal de las infecciones (momento del diagnóstico, primeros meses de tratamiento y en los casos que se hallan en respuesta a la quimioterapia). Por el contrario, en los pacientes con enfermedad progresiva, granulocitopenia posquimioterapia y en los que presentan insuficiencia renal, los gérmenes que con mayor frecuencia provocan infecciones son las bacterias gramnegativas. Se debe vigilar estrechamente la función renal, particularmente si se utilizan antibióticos nefrotóxicos. En los pacientes que presentan infecciones de repetición, puede resultar útil la profilaxis con penicilina oral, ciprofloxacino o cotrimoxazol. La vacunación neumocócica es recomendable, a pesar de que su eficacia no está absolutamente establecida. No se recomienda, en cambio, la administración de gammaglobulinas profilácticas, debido a su dudosa eficacia y elevado coste.

La eritropoyetina (EPO) es eficaz en el tratamiento de la anemia, particularmente en los pacientes con niveles bajos de EPO endógena[91]. De hecho, los pacientes con niveles de EPO inferiores a 50 mU/mL o los que muestran un incremento de Hb > 0,3 g/dL en las dos primeras semanas de tratamiento con EPO tienen una elevada probabilidad de conseguir una respuesta positiva. La dosis inicial es de 10.000 UI por vía subcutánea tres veces por semana, debiéndose ajustar la dosis en pacientes respondedores al objeto de mantener una cifra de hemoglobina de alrededor de 12 g/dL[91].

Como se ha destacado previamente, una cuarta parte de los pacientes presenta insuficiencia renal. La insuficiencia renal moderada (creatinina < 4 mg/dL) es reversible en el 50% de los casos[92,93]. Cuando la cifra de creatinina sérica es superior a 4 mg/dL, la reversibilidad sólo se observa en el 10% de los casos[93]. Los factores que se asocian a la reversibilidad de la insuficiencia renal son: cifras bajas de creatinina sérica (< 4 mg/dL), proteinuria inferior a 1 g/24 h y presencia de hipercalcemia[93]. Aproximadamente, el 10% de los pacientes con MM diagnosticados en un hospital general presentan una insuficiencia renal lo suficientemente avanzada como para requirir tratamiento sustitutivo con diálisis[94]. Aunque la insuficiencia renal grave suele ser irreversible, el 40% de los pacientes que sobreviven a los dos primeros meses de tratamiento alcanzan una respuesta objetiva con el tratamiento quimioterápico, y el 30% de los enfermos en programa de hemodiálisis crónica sobreviven más de tres años[94]. El papel de la plasmaféresis en el tratamiento de la insuficiencia renal es muy controvertido. La plasmaféresis es ineficaz en la insuficiencia renal grave que ya requiere diálisis, mientras que puede ser de utilidad en los pacientes con insuficiencia renal severa (creatinina > 4 mg/dL) que aún no precisan tratamiento sustitutivo[95].

El tratamiento de la hipercalcemia consiste en la administración de bifosfonatos (pamidronato o zolendronato), que producen un rápido descenso en la cifra de calcio sérico. El tratamiento con bifosfonatos también resulta útil en el tratamiento de la afección esquelética. El etidronato es ineficaz[96]. Existen dos estudios que han mostrado un efecto beneficioso del tratamiento con clodronato en dosis de 2.400 o 1.600 mg/día (disminución de las fracturas óseas vertebrales y no vertebrales, sin un evidente efecto sobre el dolor óseo)[97,98]. En un estudio doble ciego, la administración de pamidronato en dosis de 90 mg en perfusión de 2 horas cada 4 semanas durante 21 meses tuvo efectos positivos sobre la afección esquelética (fracturas, necesidad de radioterapia, episodios de hipercalcemia) y mejoró la calidad de vida en pacientes con MM en estadio III y con lesiones osteolíticas[99,100]. El zolendronato es un nuevo y potente bifosfonato. Se han publicado los resultados de un estudio en fase III[101] en el que se incluyeron 1.643 pacientes con MM o cáncer de mama. Los pacientes fueron aleatorizados para recibir pamidronato, 90 mg en infusión de 2 horas, o zolendronato, 4 mg u 8 mg en infusión de 5 minutos cada 3-4 semanas. Los pacientes que recibieron zolendronato presentaron una mayor incidencia de insuficiencia renal, por lo que se incrementó el tiempo de infusión a 15 minutos y se eliminó la dosis de 8 mg. Este estudio fue diseñado para demostrar que el zolendronato no era inferior al pamidronato. La infusión de 4 mg de zolendronato en 15 minutos tiene una eficacia y seguridad similar a la administración de pamidronato.

La compresión medular requiere un diagnóstico y tratamiento urgentes. Si se sospecha dicha complicación, se debe efectuar una TC o una RM. El tratamiento consiste en la administración inmediata de dosis elevadas de dexametasona (una dosis inicial de 100 mg i.v. seguida de 25 mg cada 6 horas y posterior pauta descendente), junto con radioterapia también urgente.

FORMAS ESPECIALES DE MIELOMA

Leucemia de células plasmáticas

La leucemia de células plasmáticas (LCP) es una forma poco común de discrasia plasmocelular, que se presenta *de novo*

en el 60% de los casos (LCP primaria) o bien constituye la manifestación leucémica de un MM en su fase terminal (LCP secundaria, 40% de los casos). Para el diagnóstico de la LCP se requiere la presencia de una cifra absoluta de células plasmáticas en sangre periférica superior a 2×10^9/L o una proporción superior al 20% en la fórmula leucocitaria[102-104]. Su incidencia es, aproximadamente, del 2% de todos los casos de MM. No se conoce la causa por la que sólo una pequeña parte de pacientes con MM presenta una LCP. El estudio citogenético muestra un cariotipo complejo, con múltiples anomalías numéricas y estructurales, incluyendo las monosomías 13 y 7. Con la técnica de hibridación *in situ* fluorescente, en alrededor del 90% de los casos se puede demostrar una monosomía del cromosoma 13, hallazgo citogenético de muy mal pronóstico. En casi todos los pacientes con LCP se pueden detectar niveles séricos muy elevados de IL-6, factor crucial en el crecimiento de las células mielomatosas. Los pacientes con LCP presentan un curso clínico más agresivo que los que tienen un MM clásico, con mayor frecuencia de afección extramedular (hepatoesplenomegalia, adenomegalias, plasmocitomas extraóseos), anemia, trombocitopenia, hipercalcemia e insuficiencia renal[103-104]. Por el contrario, la incidencia de lesiones osteolíticas es inferior. Una gran proporción de pacientes con LCP tienen cifras elevadas de LDH y de β_2-microglobulina, así como una elevada proporción de células plasmáticas en fase de síntesis[103-104]. El pronóstico es infausto a corto plazo, con una supervivencia media inferior a 6 meses[104]. El tratamiento con melfalán/prednisona produce malos resultados en los pacientes con LCP primaria[102-104]. La mejor aproximación terapéutica consiste en el tratamiento inicial con poliquimioterapia (VAD, ciclofosfamida/etopósido o ciclos alternantes de VCMP/VBAP) seguido de tratamiento de intensificación y rescate con progenitores hematopoyéticos, siempre que la edad y el estado general del paciente lo permitan[103].

Mieloma no secretor

En alrededor del 1% de los pacientes con MM no se puede detectar componente monoclonal sérico ni urinario por electroforesis, inmunoelectroforesis o inmunofijación (mielomas no secretores). No obstante, en la mayoría de ellos se puede demostrar, por métodos inmunohistoquímicos o por inmunofluorescencia, la presencia de la proteína monoclonal en el citoplasma de las células plasmáticas. En este caso, se trataría de mielomas «no excretores». También existen casos en los que no se puede demostrar la producción de la inmunoglobulina por parte de las células plasmáticas. Esta situación es la que constituye el mieloma «no productor» o no secretor propiamente dicho. El hecho de que en el mieloma «no excretor» no se encuentre componente M sérico ni urinario puede ser debido a: *a*) que las células plasmáticas sean incapaces de excretar inmunoglobulina; *b*) baja capacidad de síntesis de inmunoglobulina, o *c*) destrucción rápida de la inmunoglobulina, bien sea intracelular o extracelular. En este caso se trataría de mielomas oligosecretores. Existen mielomas, particularmente del tipo Bence Jones kappa, en los que el componente M sérico o la cuantía de cadenas ligeras en suero u orina son mínimos[105]. En estos casos, nunca debe hablarse de mieloma no secretor sino de mieloma oligosecretor. Las manifestaciones clínicas de los enfermos con mieloma no secretor son similares a las de los pacientes con otros tipos de mieloma, excepto que en el mieloma no secretor la incidencia de insuficiencia renal es menor[106-109]. La respuesta al tratamiento y la supervivencia son similares a las de los pacientes con otros tipos de MM, si bien en dos series se han referido supervivencias medias de 39 y 45 meses[107,109,110].

Mieloma osteosclerótico

Se caracteriza por la presencia de lesiones osteoscleróticas, polineuropatía, organomegalias, endocrinopatía, componente monoclonal y alteraciones cutáneas (síndrome de POEMS)[111]. Es muy infrecuente. En general, se presenta en la cuarta o quinta décadas de la vida, y la relación hombre/mujer es de 2/1. Los hallazgos fundamentales son una polineuropatía periférica de predominio motor y lesiones esqueléticas osteoscleróticas. Con frecuencia, existe edema de papila. En la mitad de los casos existe hepatomegalia, y en una minoría, esplenomegalia. Las alteraciones cutáneas consisten en hiperpigmentación e hipertricosis. En ocasiones, se pueden observar lesiones angiomatosas en el tronco, que desaparecen con el tratamiento. Las alteraciones endocrinas más comunes son: ginecomastia, atrofia testicular, impotencia, diabetes y amenorrea. El componente monoclonal suele ser de escasa cuantía, y en muchos casos es de tipo IgA-lambda. El diagnóstico acostumbra a efectuarse mediante biopsia de una lesión osteosclerótica. En caso de que la lesión sea única, el tratamiento con radioterapia suele mejorar la polineuropatía. Si las lesiones osteoscleróticas son múltiples se debe efectuar tratamiento citostático. En determinados casos puede contemplarse la posibilidad de efectuar un tratamiento intensivo, seguido de rescate con precursores hemoperiféricos.

Mieloma en pacientes jóvenes

El 2% de los enfermos con MM tienen menos de 40 años[7] y únicamente el 0,3% son menores de 30 años[8]. Las manifestaciones clínicas y de laboratorio de los pacientes jóvenes son muy similares a las del resto de pacientes, salvo que presentan mayor grado de afección extramedular, y con mayor frecuencia se trata de mielomas de cadenas ligeras. La tasa de respuestas al tratamiento es similar a la de los pacientes de edad más avanzada. Sin embargo, la supervivencia media es más prolongada (media de cuatro años y medio)[7].

Mieloma IgD

El mieloma IgD, descrito por primera vez por Rowe y Fahey[112], se produce en el 2% de todos los pacientes con mieloma. La mayoría de los autores considera que se trata de una variante de mieloma que se observa en pacientes más jóvenes, y sigue un curso clínico más agresivo que los otros tipos de mieloma, con mayor incidencia de insuficiencia renal, amiloidosis asociada, afección extramedular y corta supervivencia[113,114]. En una serie de 53 pacientes procedentes de una misma institución[23], las principales manifestaciones clínicas fueron: dolores óseos (72%), astenia (36%), pérdida de peso (32%), plasmocitomas extramedulares (19%) y amiloidosis asociada (19%). La insuficiencia renal y la hipercalcemia se observaron en el 33 y el 22% de los enfermos, respectivamente. La electroforesis sérica pone de manifiesto una banda homogénea únicamente en el 60% de los casos; el resto de pacientes presenta hipogammaglobulinemia o un

proteinograma aparentemente normal. En la práctica totalidad de los casos se observa proteinuria de cadenas ligeras. El tipo de cadena ligera es lambda en el 60% de los casos[23]. La respuesta al tratamiento es similar a la del resto de tipos inmunológicos. La supervivencia media fue de 21 meses[23]. En suma, el mieloma IgD puede considerarse como una variante del mieloma de cadenas ligeras, y los únicos datos diferenciales son la presencia del componente monoclonal sérico de tipo IgD, en general de escasa cuantía, y el predominio de cadenas ligeras lambda[110].

Mieloma IgM

El mieloma IgM constituye una rareza, ya que representa menos del 0,5% de todos los casos de MM[115]. Se caracteriza por una proliferación maligna de células plasmáticas que da lugar a un componente M de tipo IgM y, habitualmente, lesiones osteolíticas. Las características clínico-biológicas se deben a la proliferación de células plasmáticas, junto a la existencia de IgM circulante que, por su elevado peso molecular y tendencia a polimerizar, puede provocar un síndrome de hiperviscosidad[115]. Sin embargo, suele haber lesiones osteolíticas, excepcionales en la macroglobulinemia de Waldenström. Con frecuencia existe anemia, hipercalcemia e insuficiencia renal, estas dos últimas raras en la macroglobulinemia de Waldenström (MW). La evolución y pronóstico de esta rara entidad son más propios del MM que de la macroglobulinemia. El tratamiento debe ser similar al que se emplea en el MM.

Mieloma quiescente

Esta forma de mieloma fue descrita por Kyle y Greipp en 1980[24], y en ella se incluye a los pacientes que presentan un componente M superior a 3 g/dL y una proporción de células plasmáticas en la médula ósea superior al 10%, sin anemia, osteólisis, insuficiencia renal ni otras manifestaciones debidas a la gammapatía monoclonal; constituye aproximadamente el 10% de todos los mielomas. Puede existir proteinuria de cadenas ligeras, en general de escasa cuantía. Muchos de estos pacientes permanecen estables durante años sin requerir tratamiento. La progresión del mieloma quiescente (MQ) a mieloma sintomático depende de la cuantía del componente M, tipo inmunológico (más frecuente en el tipo IgA) y de la presencia de proteinuria de cadenas ligeras superior a 50 mg/24 h[116].

La presencia de proteinuria de cadenas ligeras se asocia, en general, a mieloma múltiple sintomático. Sin embargo, se han descrito pacientes asintomáticos, sin componente monoclonal sérico y con una excreción de cadenas ligeras superiores a 1 g/24 h, que han permanecido estables y sin requerir tratamiento durante años[117]. No obstante, la mayoría de ellos acaban evolucionando a mieloma o a amiloidosis primaria[117]. El reconocimiento de estos pacientes es muy importante, pues no se les debe administrar tratamiento citostático hasta que exista una evidente progresión de la enfermedad. Se debe tener presente que los pacientes con MM tratados con melfalán tienen una probabilidad actuarial del 19% de presentar un síndrome mielodisplásico o una leucemia aguda secundaria a los 50 meses de tratamiento alquilante[40].

Recientemente, se han descrito dos formas clínico-biológicas distintas de MQ[118]: *a*) la forma evolving o progresiva, que se caracteriza por un aumento progresivo de la cuantía del componente M a lo largo del tiempo, por un predominio del tipo IgA y por el antecedente frecuente de una gammapatía monoclonal de significado incierto, y *b*) la forma no evolving o clásica, en la que la cuantía del componente M permanece estable, hasta que aumenta bruscamente cuando se desarrolla un MM sintomático. En este último subgrupo es raro el antecedente de una GMSI previa. Los pacientes con un MQ de tipo evolving progresan antes a MM sintomático que los pacientes con un MQ no evolving (media de 1,3 años frente a 4 años). Estas dos categorías de MQ presentan, además, un perfil citogenético diferente[119]. Así, los pacientes evolving presentan múltiples anomalías cromosómicas, con ganancias y pérdidas (incluida la deleción del cromosoma 13) similares a las observadas en el MM sintomático. Por el contrario, en el MQ no evolving las pérdidas cromosómicas son infrecuentes. La supervivencia global de los pacientes con MQ desde el momento del diagnóstico es de 8 años[118].

Mieloma «no respondedor, no progresivo»

Existe un pequeño grupo de pacientes cuyos síntomas iniciales consisten en infecciones de repetición, en general neumonías o síndrome de hiperviscosidad, y que tienen un componente M sérico, generalmente de tipo IgG, muy elevado, junto con una considerable infiltración medular por células plasmáticas (30-60%), pero que no presentan dolores óseos, lesiones osteolíticas, hipercalcemia ni insuficiencia renal. Estos enfermos tienen una enfermedad que se puede considerar más productiva que proliferativa, y que no suele responder al tratamiento citostático. Si en los enfermos con estas características no se observa respuesta tras 6 ciclos de tratamiento citostático, la mejor actitud es suspender el tratamiento quimioterápico hasta que existan datos evidentes de progresión de la enfermedad. El pronóstico de estos pacientes es más favorable que el del resto de pacientes con mieloma, con una supervivencia media de alrededor de 5 años. La administración de la vacuna neumocócica (a pesar del escaso incremento en el título de anticuerpos esperable en estos pacientes: escasa capacidad de respuesta y rápido catabolismo de las inmunoglobulinas por la elevada concentración sérica de IgG) y penicilina profiláctica, así como plasmaféresis en caso de síndrome de hiperviscosidad, pueden ser de gran utilidad.

Plasmocitomas localizados

Los plasmocitomas localizados se presentan en una sola localización, ya sea en la médula ósea (mieloma óseo solitario) o en tejidos blandos (plasmocitomas extramedulares), y representan menos del 5% de todos los tumores de células plasmáticas[120]. El diagnóstico de plasmocitoma se basa en el hallazgo de una histología plasmocelular (demostrada por inmunohistoquímica), y los criterios de que el tumor está localizado consisten en: *a*) tumor solitario (óseo o extramedular); *b*) ausencia de infiltración de la médula ósea por células plasmáticas, y *c*) ausencia de componente M en suero y orina. Sin embargo, puede existir una pequeña proporción de células plasmáticas en la médula ósea (< 10%) y/o un componente monoclonal de escasa cuantía que, en muchos casos, desaparece con el tratamiento[120].

Plasmocitoma óseo solitario

El plasmocitoma óseo solitario o mieloma solitario se localiza, generalmente, en la columna vertebral, siendo la localización más habitual en las vértebras torácicas, mientras que en un tercio de los casos se localiza en la cintura escapular o pelviana, o bien, en los huesos largos de las extremidades. Entre un tercio y la mitad de los casos las lesiones óseas se extienden por contigüidad a partes blandas[120]. Hasta el 40% de los casos de localización vertebral se presenta en forma de paraparesia o tetraparesia. Puesto que un aparente plasmocitoma solitario puede constituir la primera manifestación de un MM, esta posibilidad se debe excluir con el máximo rigor[120]. En este sentido, se debe efectuar el estudio habitual completo del MM y practicar una RM, exploración complementaria que se ha mostrado útil en el diagnóstico de extensión de los plasmocitomas solitarios. El tratamiento consiste en dosis tumoricidas de radioterapia de megavoltaje, fraccionada hasta completar una dosis de entre 40 y 50 Gy[120,121]. No se ha de administrar quimioterapia a no ser que se observe una evolución a mieloma múltiple. La supervivencia libre de enfermedad a los 10 años del diagnóstico oscila entre el 15 y el 42% de los casos; el resto ha sufrido una recidiva local (3-12%) o a distancia (15%), o bien ha evolucionado a MM (45-70%). La mediana de supervivencia es de alrededor de 10 años. Tanto las recaídas locales como la evolución a MM suelen producirse en los 3 o 4 años que siguen al diagnóstico. De este modo, la media hasta la evolución a MM es de 3 años.

Plasmocitomas extramedulares

La localización más frecuente de los plasmocitomas extramedulares son las vías respiratorias superiores y la cavidad oral (80% de los casos)[120]. En algunos casos se encuentran metástasis en los ganglios linfáticos cervicales que, a veces, constituyen la primera manifestación de la enfermedad[122]. Existe un predominio del tipo inmunológico IgA. El tratamiento consiste en dosis elevadas de megavoltaje (40 a 50 Gy). El pronóstico es más favorable que en el caso del mieloma óseo solitario. La supervivencia libre de enfermedad a los 10 años oscila entre el 40 y el 70%[122,123]. Las recaídas locales se producen en los 5 años que siguen al diagnóstico, y se localizan en los huesos o en los tejidos blandos. La evolución a MM se observa entre el 8 y el 30% de los pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kyle RA. Multiple myeloma: a brief history. En: Myeloma: Biology and Management. 3.ª ed. En: Malpas JS, Bergsagel DE, Kyle RA, Anderson KC (eds.) Philadelphia: Saunders, 2004; 99-116.
2. Herrington LJ, Weiss NS, Olshan AF. Epidemiology of myeloma. En: Myeloma: Biology and Management. 3.ª ed. Malpas JS, Bergsagel DE, Kyle RA, Anderson KC (eds.) Philadelphia: Saunders, 2004; 117-157.
3. Bladé J, Kyle RA. Monoclonal gammopathies of undetermined significance. En: Myeloma: Biology and Management. 3.ª ed. Malpas JS, Bergsasagel DE, Kyle RA, Anderson KC (eds.) Philadelphia: Saunders, 2004; 315-352.
4. Kyle RA, Beard CM, O'Fallon WM, Kurland LT. Incidence of multiple myeloma in Olmsted County, Minnesota, 1978 throught 1990, with a review of the trends since 1945. J Clin Oncol 1994; 12: 1577-1583.
5. Hallek M, Bergsagel PL, Anderson KC. Multiple myeloma: increasing evidence for a multistep transformation process. Blood 1998; 91:3-21.
6. Turesson I, Zetterwall O, Cuzick J et al. Comparison of trends in the incidence of multiple myeloma in Malmö, Sweden, and other countries, 1950-1979. N Engl J Med 1984; 310:421.
7. Bladé J, Kyle RA, Greipp PR. Presenting features and prognosis in 72 patients with multiple myeloma who were younger than 40 years. Br J Haematol 1996; 93:345-351.
8. Bladé J, Kyle RA, Greipp PR. Multiple myeloma in patients younger than 40 years. Report of 10 cases and review of the literature. Arch Intern Med 1996; 156:1463-1468.
9. San Miguel JF, García-Sanz R, González M, Orfao A. Immunophenotype and DNA content in multiple myeloma. Ballière's Clin Haematol 1995; 8:735-759.
10. Ocqueteau M, Orfao A, Almeida J et al. Immunophenotipic characterization of plasma cells from monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) patients. Implications for the differential diagnosis between MGUS and multiple myeloma. Am J Pathol 1998; 152:1655-1665.
11. Klein B, Zhang X-G, Rossi JF. Cytokine, cytokine receptors, signal transducction in human multiple myeloma. En: Myeloma: Biology and Management. 2.ª ed. En: Malpas JS, Bergsagel DE, Kyle RA, Anderson KC (eds.) Oxford: Oxford University Press, 1998; 70-88.
12. Bataille R, Barlogie B, Lu ZY et al. Biologic effects of anti-interleukin-6 murine monoclonal antibody in advanced multiple myeloma. Blood 1995; 86:685-691.
13. Börset MW, Brekke OL, Helseth E. TNF and IL-6 are potent growth factors for OH-2, a novel humam myeloma cell line. Eur J Haematol 1994; 33:31-37.
14. Dewald GW, Kyle RA, Hicks GA, Greipp PR. The clinical significance of cytogenetic studies in 100 patients with multiple myeloma, plasma cell leukemia or amyloidosis. Blood 1985; 66:380-390.
15. Cigudosa JC, Pullivarthi MJ et al. Characterization of non-random chromosomal gains and losses in multiple myeloma by comparative genomic hybridization. Blood 1998; 91:3007-3010.
16. Tricot G, Sawyer JR, Jagannath S et al. Unique role of cytogenetics in the prognosis of patients with myeloma receiving high-dose therapy and autotransplants. J Clin Oncol 1997; 15:2659-2666.
17. Tabernero D, San Miguel JF, García-Sanz R et al. Incidente of chromosome numerical changes in multiple myeloma. Am J Pathol 1996; 149:153-161.
18. Tricot G, Barlogie B, Jagannath S et al. Poor prognosis in multiple myeloma is associated only with partial or complete deletions of chromosome 13 or abnormalities involving 11q and not with others karyotype abnormalities. Blood 1995; 86:4250-4256.
19. Avet-Loiseau H, Facon T, Grosbois B et al. Oncogenesis of multiple myeloma: 14q32 and 13q chromosomal abnormalities are not randomly distributed, but correlate with natural history, immunological features, and clinical presentation. Blood 2002; 99:2185-2191.
20. Shaughnessy J, Stewart AK. Gene expression profiling and multiple myeloma. En: Myeloma: Biology and Management. 3.ª ed. Malpas JS, Bergsagel DE, Kyle RA, Anderson KC (eds.) Philadelphia: Saunders, 2004; 83-95.
21. Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE et al. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. Mayo Clin Proc 2003; 78:21-33.
22. Bladé J, Rozman C, Montserrat E et al. Mieloma múltiple: descripción de una serie de 170 casos. Med Clin (Barc) 1984; 82:287-294.
23. Bladé J, Lust JA, Kyle RA. IgD multiple myeloma: presenting features, response to therapy and survival in a series de 53 patients. J Clin Oncol 1994; 12:2398-2404.
24. Kyle RA, Greipp PR. Smoldering multiple myeloma. N Engl J Med 1980; 302:1347-1349.
25. Kyle RA. Why better prognostic factors for multiple myeloma are needed. Blood 1994; 83:1713-1716.
26. Carbone PP, Kellerhouse LE, Gehan EA. Plasmacytic myeloma: a study of the relationship of survival to various clinical manifestations and anomalous protein type in 112 patients. Am J Med 1967; 42:937-948.

CAPÍTULO 32

Macroglobulinemia de Waldenström. Enfermedades de las cadenas pesadas. Crioglobulinemias monoclonales

J. Bladé y M.ª T. Cibeira

ÍNDICE

Macroglobulinemia de Waldenström
- Introducción
- Manifestaciones clínicas
- Pruebas de laboratorio
- Diagnóstico diferencial
- Tratamiento
- Pronóstico y evolución

Enfermedades de las cadenas pesadas
- Introducción
- Enfermedad de las cadenas pesadas gamma (enfermedad de Franklin)
- Enfermedad de las cadenas pesadas alfa (enfermedad de Seligmann)
- Enfermedad de las cadenas pesadas mu (enfermedad de Forte)
- Enfermedad de las cadenas pesadas delta

Crioglobulinemias monoclonales

Bibliografía

MACROGLOBULINEMIA DE WALDENSTRÖM

Introducción

La macroglobulinemia de Waldenström (MW) consiste en una proliferación monoclonal de células linfoides B secretoras de inmunoglobulina de tipo IgM. Esta entidad fue descrita por Waldenström en 1944[1] como un síndrome caracterizado por anemia, tendencia a la diátesis hemorrágica, linfadenopatías generalizadas, infiltración de la médula ósea por células linfoplasmocitarias y elevación de las globulinas séricas, identificadas posteriormente como macroglobulinas[2]. Como puede observarse en la tabla 32.1, existen otros procesos que también pueden presentar un componente monoclonal (M) sérico de tipo IgM[3-6]. La MW es una enfermedad poco común, y su incidencia se sitúa alrededor de 0,5 casos nuevos por 100.000 habitantes y año. Al igual que el mieloma múltiple (MM), afecta a individuos de edad avanzada (media de 65 años). El 60% de los pacientes son de sexo masculino.

Manifestaciones clínicas

El inicio suele ser insidioso. Los síntomas más frecuentes son astenia, diátesis hemorrágica, pérdida de peso y trastornos

TABLA 32.1

Enfermedades que pueden cursar con paraproteinemia IgM

Macroglobulinemia de Waldenström
Gammapatía monoclonal de significado indeterminado
Mieloma IgM
Linfomas no hodgkinianos
Leucemia linfoide crónica
Amiloidosis primaria
Procesos autoinmunes (síndrome de Sjögren, artritis reumatoide, anemia hemolítica)

visuales o neurológicos (tabla 32.2)[5,7-11]. La proliferación tumoral da lugar a adenopatías periféricas de mediano tamaño, esplenomegalia y hepatomegalia en más de la tercera parte de los casos (tabla 32.3). La hepatomegalia es, en general, moderada, suele ir acompañada de alteraciones biológicas y, en la mayoría de los casos, se debe a infiltración linfoide. Excepcionalmente, se han descrito casos de hiperplasia nodular regenerativa[12]. La esplenomegalia también es moderada, y se debe a infiltración linfoplasmocitaria de la pulpa blanca, aunque en algunos casos es consecuencia de la asociación de la MW con anemia hemolítica. Aparte de la púrpura, fenómeno de Raynaud y urticaria, la afección cutánea es rara, si bien se han descrito casos con lesiones infiltrativas en forma de nódulos cutáneos[13]. La afección pleuropulmonar es excepcional. Sin embargo, puede constituir la manifestación predominante, y se han referido casos de infiltrados pulmonares reticulonodulillares, masas parenquimatosas únicas y derrame pleural[14,15]. A diferencia de lo que ocurre en el MM, las lesiones osteolíticas son excepcionales. En cuanto al componente M, por su tamaño y tendencia a formar polímeros, puede dar lugar a un síndrome de hiperviscosidad, cuyas manifestaciones clínicas son consecuencia de las alteraciones microcirculatorias en distintos órganos. Cabe destacar, sin embargo, que cada paciente tiene un «umbral individual» que no siempre se correlaciona con la cuantía del componente M. Pequeños incrementos en la concentración de la paraproteína pueden dar lugar a un considerable aumento de la viscosidad[16]. El 20% de los individuos con MW presentan el síndrome clínico de hiperviscosidad. Las manifestaciones más frecuentes de este síndrome son: *a*) diátesis hemorrágica (epistaxis, púrpura, sangrado difuso de mucosas y, excepcionalmente, hemorragias gastrointestinales masivas o cerebrales); *b*) oculares (alteraciones o pérdida de visión), observándose en el examen del fondo de ojo distensión y tortuosidad de las venas retinianas, así como hemorragias y exudados, e incluso microaneurismas y papiledema; *c*) neurológicas (cefalea, vértigos, neuropatía periférica, accidentes vasculares cerebrales e incluso coma paraproteinémico), y *d*) cardiovasculares (hipervolemia, insuficiencia cardíaca congestiva)[16].

La neuropatía periférica constituye la complicación neurológica más frecuente de la MW, con una incidencia que oscila entre el 5 y el 25%[17-20]. Puede manifestarse como una neuropatía sensitiva, una neuropatía sensitivo-motora o como una mononeuropatía. Aunque la neuropatía periférica pueda asociarse a hiperviscosidad (síndrome de Bing-Neel o neuropatía por afección de los *vasa nervorum* debida a hiperviscosidad), en general no se debe a dicha alteración, y puede incluso preceder a la detección de la paraproteinemia. La demostración de depósitos de IgM en las biopsias de nervios periféricos y la unión de la macroglobulina a la glucoproteína asociada a la mielina o a glucolípidos del nervio (MAG) hasta en el 50% de los casos de neuropatía asociada con gammapatías monoclonales de tipo IgM[20] sugieren que, en una considerable proporción de pacientes, la neuropatía tiene una base inmunológica.

La afección renal en la MW es mucho menos frecuente que en el MM y, cuando se presenta, es fundamentalmente glomerular, en contraste con la afección básicamente tubular característica del MM. La amiloidosis renal también es menos frecuente que en el MM (sólo el 2% de los pacientes con MW presenta una amiloidosis asociada)[21]. En algunos casos, la paraproteína se comporta como una crioaglutinina, y puede dar lugar a hipersensibilidad al frío y hemólisis crónica con exacerbaciones agudas relacionadas con la exposición al frío[10].

TABLA 32.2

Síntomas iniciales en 393 pacientes con macroglobulinemia

Síntoma	Frecuencia (%)
Astenia	41
Diátesis hemorrágica	31
Pérdida de peso	18
Síntomas neurológicos	12
Trastornos visuales	10
Infecciones	8
Dolores óseos y artralgias	4
Fenómeno de Raynaud	3
Ninguno	9

Según Paladini, 1986[5].

TABLA 32.3

Principales datos exploratorios en 433 pacientes con macroglobulinemia

Hallazgo	Frecuencia (%)
Hepatomegalia	41
Esplenomegalia	40
Adenopatías	36
Cambios en fondo de ojo	29
Trastornos neurológicos	18
Púrpura	12

Según Paladini, 1986[5].

Pruebas de laboratorio

En las tres cuartas partes de los casos la cifra de hemoglobina (Hb) es inferior a 12 g/dl. La hemodilución, ocasionada por el aumento del volumen plasmático, puede dar lugar por sí misma a una falsa anemia por hipervolemia hasta en el 30% de los casos. Se debe tener en cuenta que las transfusiones pueden precipitar una insuficiencia cardíaca latente, relacionada con la hiperviscosidad y la hipervolemia. En el 30% de los casos existe linfocitosis. Estos linfocitos son clonales, ya que expresan la inmunoglobulina monoclonal IgM y el mismo tipo de cadena ligera. En el 20% de los pacientes existe trombocitopenia, en general moderada. La VSG se halla muy elevada, y en la extensión de sangre periférica es típico que los hematíes se agrupen formando «pilas de monedas» («*rouleaux*»). En todos los casos existe componente M de tipo IgM que, en general, supera los 30 g/L. La IgM consiste en un pentámero con un peso molecular de alrededor de 900 kDa. La mitad de los pacientes presentan proteinuria de Bence Jones, aunque sólo en el 3% de los casos excede la cuantía de 1 g/24 h[10]. Las inmunoglobulinas policlonales (IgG e IgA) se hallan disminuidas entre el 40 y el 50% de los casos[10]. Las crioglobulinas, proteínas que precipitan con el frío, se encuentran en el 15% de los pacientes

con MW, si bien producen sintomatología en menos del 5% de los casos. Los síntomas de hipersensibilidad al frío son más frecuentes si la crioglobulina empieza a precipitar a temperaturas superiores a 22 °C y si su concentración sérica es superior a 20 g/L. En aproximadamente el 10% de los casos, la IgM reacciona con antígenos específicos de los hematíes a temperaturas inferiores a 37 °C, dando lugar a una anemia hemolítica crónica[10]. La hemólisis es extravascular y, en general, de intensidad moderada. La proteína es, frecuentemente, de tipo IgM-kappa, y el antígeno eritrocitario con el que reacciona con mayor frecuencia es el Ia[22]. La paraproteína puede producir trastornos de la hemostasia por alteración de la función plaquetaria y déficit de factores VIII, V, y VII de la coagulación. Si existe amiloidosis asociada, las hemorragias pueden ser debidas a una inactivación *in vivo* del factor X. La médula ósea muestra un aspecto muy polimorfo, con infiltración por linfocitos, células linfoplasmocitoides y células plasmáticas, estas últimas en proporción inferior al 10%[23] (fig. 32.1). Es característica la presencia de células cebadas en las zonas de grumo aplastado, dato este último de gran interés en el diagnóstico diferencial entre la MW y otros síndromes linfoproliferativos que cursan con un componente monoclonal de tipo IgM, como los linfomas linfoplasmocitoides. La biopsia de médula ósea suele mostrar un patrón infiltrativo de tipo intersticial o difuso, aunque en ocasiones puede adoptar una disposición nodular o paratrabecular. Con frecuencia existe fibrosis reticulínica.

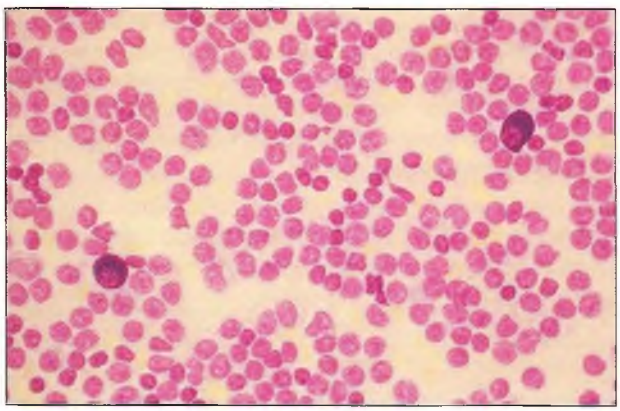


Figura 32.1. Infiltración medular masiva por linfocitos de aspecto maduro junto a dos mastocitos en un caso de macroglobulinemia de Waldenström.

Diagnóstico diferencial

El diagnóstico diferencial de la MW se plantea con los diversos procesos que cursan con componente M de tipo IgM. Cuando el cuadro clínico de MW es florido, con hepatoesplenomegalia, adenopatías, infiltración linfoplasmocitaria de la médula ósea con mastocitosis y componente M superior a 30 g/L, el diagnóstico no ofrece dudas[10,11]. Cuando el componente M de tipo IgM se asocia con linfoma, leucemia linfoide crónica, amiloidosis o procesos autoinmunes, la cuantía del mismo es escasa y constituye un hallazgo en el estudio del proceso fundamental. La entidad más difícil de diferenciar de la MW es el linfoma linfoplasmocitoide, ya que forma parte del mismo espectro proliferativo y el límite entre ambos procesos es arbitrario. El MM de tipo IgM es una entidad poco frecuente, de la que se han descrito unos 30 casos, y consiste en una forma de mieloma caracterizado por una proliferación de células plasmáticas que da lugar a un componente M de tipo IgM, lesiones osteolíticas y, ocasionalmente, hipercalcemia e incluso insuficiencia renal[24]. La evolución y pronóstico de esta rara entidad son más propios del MM que de la MW[24].

Tratamiento

La supervivencia media de los pacientes con MW es de alrededor de 5 años[10,11]. Los enfermos asintomáticos no deben tratarse hasta que existan signos evidentes de progresión de la enfermedad[25]. Cabe señalar que existen pacientes con gammapatía monoclonal de significado incierto de tipo IgM, que permanecen estables durante años y muchos de ellos nunca evolucionarán a MW[6,10,25,26]. Los datos que indican enfermedad activa son: presencia de sintomatología general, anemia intensa con cifras de Hb inferiores a 8 g/dL, síndrome clínico de hiperviscosidad, hepatoesplenomegalia marcadas o presencia de grandes masas adenopáticas[27]. El tratamiento más empleado ha sido la administración de clorambucilo de forma continua en dosis de 4-6 mg/día, según la tolerancia hematológica del paciente. Alcanzar el grado de máxima respuesta con este esquema puede requerir un año o más de tratamiento continuo[10,11]. La administración de clorambucilo de forma intermitente produce resultados similares (tasa de respuesta parcial en torno al 65-80%)[28]. En cuanto a la combinación con corticosteroides, no existe evidencia de que aporte beneficio alguno, excepto en los pacientes que presentan citopenias autoinmunes. Los análogos de la purinas (fludarabina, 2-clorodeoxiadenosina –2-CdA–) producen respuestas en un 40% de los pacientes resistentes a clorambucilo-prednisona, y hasta en el 85% de los enfermos de nuevo diagnóstico[29-36]. La fludarabina se administra en dosis de 25 mg/m^2 i.v. durante 5 días, cada cuatro semanas, y suelen completarse entre 4 y 6 ciclos. El tratamiento con 2-CdA consiste en la administración de 2 ciclos del fármaco en dosis de 0,1 mg/kg/día, en perfusión continua durante 7 días, con un intervalo de 4 semanas. Ambos tratamientos producen un importante descenso de CD4, por lo que debe efectuarse profilaxis de la infección por *Pneumocystis carinii* desde que se inicia el tratamiento hasta que se normalizan los valores de CD4. No está establecido si la eficacia del tratamiento con análogos de las purinas es superior o no al tratamiento clásico con clorambucilo[36]. El anticuerpo monoclonal anti-CD20 (rituximab) se ha mostrado eficaz en pacientes resistentes o en recaída con una tasa de repuestas entre el 30 y el 60%[34,35,37,38]. Además, tiene las ventajas de producir menor toxicidad que el resto de agentes y puede mejorar considerablemente las citopenias, en particular la anemia y la trombocitopenia, por lo que constituye un tratamiento apropiado para pacientes candidatos a terapia intensiva mediante autotrasplante de progenitores hematopoyéticos. Es importante tener en cuenta que, tras el inicio del tratamiento con rituximab, puede observarse hasta en el 30% de los casos un aumento transitorio de la cifra de IgM (*flare*), sin que ello indique que el fármaco es ineficaz[32]. En ocasiones este fenómeno obliga a la práctica de recambio plasmático. Se ha referido también que la talidomida es capaz de producir respuestas, tanto en casos de enfermedad refractaria como en pacientes de nuevo diagnóstico[39]. En los pacientes jóvenes y con una enfermedad agresiva o en recaída se puede considerar la práctica de un autotrasplante, recomendándose en estos casos evitar la exposición previa a análogos de las puri-

nas, al objeto de no comprometer la obtención de células madre[40]. En los pacientes con síndrome clínico de hiperviscosidad el tratamiento citostático se debe complementar con plasmaféresis. Debido a su elevado peso molecular, alrededor del 80% de la IgM se halla en el espacio intravascular y, como ya se ha mencionado, pequeños incrementos en la concentración de la macroglobulina pueden provocar un notable aumento de la viscosidad. Por el contrario, disminuciones relativamente pequeñas pueden conducir a considerables descensos de la viscosidad, sin que exista una entrada rápida de macroglobulina procedente del espacio extravascular. Por este motivo, las plasmaféresis pueden mejorar rápidamente el síndrome de hiperviscosidad, y en pacientes con una enfermedad no muy activa su efecto puede ser relativamente duradero[11]. Así, en algunos casos una plasmaféresis mensual es suficiente para controlar el síndrome de hiperviscosidad. Por último, se están investigando nuevas combinaciones terapéuticas y, en este sentido, cabe destacar los resultados obtenidos con la adición de rituximab a quimioterapia con ciclofosfamida y 2-CdA, habiéndose referido hasta el 94% de respuestas parciales, incluyendo un 18% de respuestas completas[41].

Pronóstico y evolución

La MW es una enfermedad de curso lento y evolución muy variable de un paciente a otro. El pronóstico viene determinado por la agresividad de la enfermedad y la respuesta al tratamiento. La supervivencia media se sitúa alrededor de los 5 años, y una proporción no despreciable de pacientes sobreviven más de 10 años[10,11]. En un estudio multivariado, efectuado sobre 167 pacientes, los factores pronósticos independientes asociados con una menor supervivencia fueron: edad avanzada, sexo masculino, presencia de sintomatología general y existencia de citopenias[42]. Por el contrario, ni la cuantía del componente M ni el grado de infiltración medular tuvieron influencia pronóstica. En otro estudio, en el que se incluyeron 144 casos, los factores que tuvieron una influencia independiente en la supervivencia fueron: cifra de Hb, edad, pérdida de peso y presencia de crioglobulinemia[43]. En la serie del Registro español, compuesta por 217 casos, los factores pronósticos fundamentales fueron la cifra de Hb y los niveles séricos de β_2-microglobulina[44]. Las causas de muerte más habituales son: hemorragias, trombosis, infecciones y anemia hemolítica. Algunos casos evolucionan a linfomas de alto grado de malignidad, y también se ha referido la evolución a leucemia aguda, en general mieloblástica o mielomonocítica[10,11].

ENFERMEDADES DE LAS CADENAS PESADAS

Introducción

Las enfermedades de las cadenas pesadas son trastornos linfoproliferativos de células B que se caracterizan por la producción de un componente M anómalo, compuesto por moléculas incompletas de cadenas pesadas desprovistas de cadenas ligeras. Son enfermedades muy poco frecuentes, ya que constituyen sólo el 1% de las discrasias plasmocelulares[45-51]. Su diagnóstico se basa en la demostración de la molécula incompleta de inmunoglobulina en el suero, citoplasma de las células proliferantes, jugo intestinal u orina, por métodos inmunohistoquímicos. El componente M sérico suele ser de escasa cuantía, de modo que en más de la tercera parte de los casos es inferior a 5 g/L, hecho por el cual con frecuencia pasa inadvertido en la electroforesis sérica. Así, la proteína no se descubre en aproximadamente el 20% de los casos de enfermedad de las cadenas pesadas gamma, en el 50% de los casos de cadenas pesadas alfa y hasta en el 75% de los casos de enfermedad de cadenas pesadas mu. En estos casos, el patrón electroforético parece normal o muestra una ligera hipogammaglobulinemia. Por otra parte, cuando el componente M se detecta en la electroforesis no suele dar lugar a una banda estrecha, como ocurre en el MM, sino a una banda ancha. El diagnóstico se efectúa por inmunoelectroforesis o inmunofijación, al demostrar un componente M que reacciona frente a una determinada cadena pesada, pero no con antisueros frente a las cadenas ligeras. En la tabla 32.4 se expone el diagnóstico diferencial de las enfermedades de las cadenas pesadas.

Enfermedad de las cadenas pesadas gamma (enfermedad de Franklin)

Fue descrita por primera vez por Franklin en 1964[48] y desde entonces se han referido unos 100 casos. Aparece en sujetos de alrededor de 60 años de edad, aunque el 5% de los pacientes tiene menos de 20 años, y se presenta como un síndrome linfoproliferativo crónico. Los datos clínicos más frecuentes son astenia, fiebre, adenopatías y hepatoesplenomegalia de considerable tamaño[46-48]. El edema palatino y de

TABLA 32.4

Diagnóstico diferencial de las enfermedades de las cadenas pesadas

Dato	Enfermedad de Franklin (Hγ)	Enfermedad de Seligmann (Hα)	Enfermedad de Forte (Hμ)	Enfermedad de Vilpo (Hδ)
Edad	Adultos	Jóvenes	Adultos	Viejos
Síntomas	Infecciones repetición	Síndrome de malabsorción	Propios LLC	Propios MM
Adenopatías periféricas	++	–	–/+	–
Hepatomegalia	+	–	+	–
Esplenomegalia	+	–	+	–
Cadena pesada	Fracción Fc cadena γ	Fracción Fc cadena α	Polímeros cadena μ	Tetrámero cadena δ
Banda homogénea	+	–	+	+
Proteinuria de Bence Jones	–	–	+ (60%, κ)	–
Aspirado medular	Infiltración de células linfoplasmocitarias	Normal	Infiltración de células plasmáticas vacuoladas	Infiltración plasmática

la úvula, debido a infiltración del anillo de Waldeyer, se observa actualmente con menos frecuencia que en los primeros casos descritos. Se ha referido afección cutánea o subcutánea en forma de nódulos[47-49]. La afección esquelética es excepcional. Se han descrito casos con polineuropatía sensitivo-motora. Suele existir anemia, que es de intensidad moderada, a no ser que se asocie con anemia hemolítica autoinmune. En algunos casos existe pancitopenia, presencia de linfocitos atípicos en sangre periférica y, ocasionalmente, se puede observar eosinofilia. En el 60% de los casos existe proteinuria, en general inferior a 1 g/24 h, aunque en algunos casos puede llegar a 20 g/24 h. Sin embargo, no existe proteinuria de cadenas ligeras. En el 25% de los casos se asocia con procesos autoinmunes, en especial a artritis reumatoide y anemia hemolítica autoinmune Coombs positiva. En dos tercios de los pacientes existe una infiltración linfoplasmocitaria polimorfa de la médula ósea y de los ganglios linfáticos. El diagnóstico se establece al demostrar la naturaleza del componente M por inmunoelectroforesis o inmunofijación. El curso clínico es muy variable, con una supervivencia que oscila entre muy pocos meses y más de 20 años. El 20% de los casos se asocia a linfoma no hodgkiniano. El tratamiento es poco eficaz y su elección depende de la agresividad de la enfermedad: desde la abstención terapéutica en los pacientes asintomáticos, pasando por la monoterapia alquilante con clorambucilo o ciclofosfamida, hasta la poliquimioterapia en los casos más agresivos[49]. Las infecciones y la progresión de la enfermedad son las causas más frecuentes de muerte.

Enfermedad de las cadenas pesadas alfa (enfermedad de Seligmann)

Fue descrita por Seligmann en 1968[50], y constituye la enfermedad por cadenas pesadas más frecuente, habiéndose descrito alrededor de 400 casos[51]. A diferencia de lo que sucede con el resto de gammapatías monoclonales, la mayoría de los pacientes son jóvenes, con una edad comprendida entre 10 y 30 años, con el pico de máxima incidencia en la tercera década de la vida[50,51]. Puede presentarse bajo dos formas clínicas: *a)* intestinal, que se observa en áreas geográficas donde la infestación intestinal por parásitos, bacterias y virus es frecuente, y *b)* respiratoria, de la que tan sólo se han descrito unos pocos casos. La localización intestinal, conocida antes como linfoma mediterráneo, forma parte del espectro de trastornos incluidos bajo el término de enfermedad inmunoproliferativa del intestino delgado[50,51]. El cuadro clínico consiste en un síndrome de malabsorción que cursa con diarrea crónica y dolor abdominal. La astenia y la pérdida de peso son constantes, y en el 50% de los casos existe acropaquia. En ocasiones, se palpan masas abdominales, que corresponden a adenopatías mesentéricas. El cuadro de malabsorción se debe a una infiltración linfoplasmocitaria de la mucosa intestinal y de los ganglios mesentéricos. En fases más avanzadas el infiltrado celular puede ser más atípico, y los ganglios mesentéricos dar lugar a grandes masas adenopáticas. Si bien el diagnóstico puede efectuarse mediante el examen histopatológico de una biopsia intestinal peroral, este tipo de biopsia suele ser demasiado superficial para identificar cambios linfomatosos, por lo que a menudo se requiere una laparotomía para efectuar un diagnóstico correcto. Aunque las lesiones predominan en duodeno y yeyuno, el intestino delgado suele estar afectado en toda su extensión, salvo en casos excepcionales, en los que la lesión puede hallarse confinada al yeyuno o al íleon. Se han descrito tres estadios histopatológicos de la enfermedad: estadio A (infiltración por células plasmáticas maduras o por células linfoplasmocitoides de la mucosa); estadio B (infiltración por células plasmáticas o linfoplasmocitarias atípicas, junto a algunos inmunoblastos, que se extiende al menos hasta la submucosa), y estadio C (corresponde a un linfoma de células grandes)[52]. Cabe destacar que en un mismo paciente pueden coincidir diferentes estadios histopatológicos en distintas zonas del intestino delgado. Este hecho debe tenerse en cuenta cuando se efectúa el diagnóstico de extensión en laparotomía. El diagnóstico definitivo viene dado por la demostración en el suero o jugo intestinal de la inmunoglobulina monoclonal, constituida por una parte de la cadena pesada desprovista de cadenas ligeras. La electroforesis sérica pone de manifiesto una hipogammaglobulinemia y una banda ancha entre la región de las alfa-2 y las betaglobulinas. En general, el componente M no da lugar a una evidente banda monoclonal, ya que los fragmentos de la cadena pesada alfa tienen tendencia a formar polímeros de distinto tamaño, que no se eliminan por la orina. En más de 100 sueros estudiados, el subtipo de cadena pesada siempre ha sido la alfa-1[51].

Los pacientes con lesiones en estadio inicial y limitadas al área enteromesentérica deben tratarse con antibióticos (metronidazol y ampicilina o tetraciclinas) junto con la erradicación de cualquier infestación intestinal. Con el tratamiento antibiótico se han conseguido grandes mejorías e incluso curaciones[52]. Si no se consigue una evidente mejoría en 6 meses o si no se alcanza la remisión completa en 1 año, debe administrarse tratamiento citostático, generalmente a base de las pautas que se utilizan para los linfomas de alto grado de malignidad (ciclofosfamida, adriamicina, vincristina y prednisona –CHOP–)[53,54]. En las formas localizadas, la resección quirúrgica seguida de poliquimioterapia constituye el tratamiento de elección. Si existen grandes masas abdominales, puede resultar útil la radioterapia abdominal. En todos los casos se efectuará el tratamiento sintomático del síndrome de malabsorción. La evolución de la enfermedad suele ser progresiva, y fatal a medio plazo. Los pacientes suelen fallecer por el cuadro de malabsorción, progresión tumoral o complicaciones quirúrgicas abdominales.

Enfermedad de las cadenas pesadas mu (enfermedad de Forte)

Fue descrita por Forte en 1970[55] y se caracteriza por el hallazgo de un fragmento de cadena mu en el suero. El espectro clínico de 28 casos referidos en la literatura fue objeto de una extensa revisión[56]. La gran mayoría de los pacientes presenta un síndrome linfoproliferativo crónico asociado, en general, a una leucemia linfoide crónica (LLC). Las principales diferencias con la LLC típica son: *a)* escasa frecuencia de adenopatías periféricas y presencia de hepatomegalia y/o esplenomegalia en más del 90% de los casos; *b)* presencia de células plasmáticas vacuoladas en la médula ósea, que son casi patognomónicas, y *c)* eliminación de grandes cantidades de cadenas ligeras kappa por la orina en los dos tercios de los casos. En el 25% de los pacientes existen lesiones osteolíticas. La electroforesis sérica es normal o muestra una hipogammaglobulinemia, y sólo ocasionalmente se observa un componente monoclonal. El diagnóstico se efectúa por inmunoelectroforesis o por inmunofijación. La supervivencia media se sitúa en torno a los 2 años. El tratamiento es el propio de la LLC.

Enfermedad de las cadenas pesadas delta

Sólo se ha descrito un caso, que cursaba con lesiones osteolíticas, infiltración de la médula ósea por células plasmáticas atípicas e insuficiencia renal de evolución rápidamente fatal[57].

CRIOGLOBULINEMIAS MONOCLONALES

Las crioglobulinas son inmunoglobulinas que precipitan a bajas temperaturas y que se redisuelven por calentamiento. La agregación y/o precipitación de dichas proteínas puede provocar isquemia y úlceras en las zonas del cuerpo que alcanzan temperaturas más bajas: dedos, orejas, nariz y piel. Por otra parte, los complejos inmunoglobulínicos pueden depositarse en el riñón y dar lugar a insuficiencia renal (tabla 32.5)[58].

La crioglobulinemia de tipo I consiste en la presencia de un componente monoclonal (IgM, IgG o IgA) que actúa por él mismo como una crioglobulina. Cuando la concentración de dicha crioglobulina es elevada, su precipitación en pequeños vasos puede dar lugar a vasculitis, isquemia e incluso necrosis (fig. 32.2). En algunos casos, el síndrome se halla dentro del contexto de un MM o de una MW. En otros casos, constituye la única manifestación de una gammapatía monoclonal de significado indeterminado.

TABLA 32.5

Sintomatología de las crioglobulinemias monoclonales

Diátesis hemorrágica
Fenómeno de Raynaud
Isquemia, úlceras y necrosis en partes acras
Artritis
Insuficiencia renal

Figura 32.2. Necrosis distal de los dedos de la mano en un paciente con mieloma múltiple afecto de crioglobulinemia de tipo I.

La crioglobulinemia de tipo II consiste en la presencia de una inmunoglobulina monoclonal que posee actividad anticuerpo frente a otro componente sérico. La variante más frecuente de este trastorno es la IgM monoclonal frente a IgG policlonal. También se ha descrito la existencia de componentes monoclonales de tipo IgG o IgA frente a complejos antigénicos de tipo IgG, así como la presencia de anticuerpos monoclonales dirigidos frente a proteínas séricas de naturaleza no inmunoglobulínica. Aparte de las lesiones cutáneas, la crioglobulinemia de tipo II puede provocar artritis, depósitos de inmunocomplejos en el riñón e insuficiencia renal. El grado de compromiso renal depende de la concentración sérica de inmunoglobulina. Aunque la crioglobulinemia de tipo II es en general idiopática, en muchas ocasiones se asocia a la hepatitis C. Ello sugiere que el virus con la hepatitis C (VHC) desempeña un papel en la patogénesis de la crioglobulinemia de tipo II en algunos casos, y podría explicar la respuesta de algunos de estos pacientes al tratamiento con interferón alfa (IFN-α)[59]. Algunos genotipos del virus C se asocian con mayor frecuencia con gammapatías monoclonales y, en consecuencia, con crioglobulinemia de tipo II, en concreto, el genotipo 2a/c[60].

El tratamiento de las criglobulinemias monoclonales consiste en el tratamiento de la enfermedad de base, la administración de glucocorticoides o plasmaféresis. En los pacientes con crioglobulinemia sintomática, sin evidencia de linfoma y positividad para el VHC, puede considerarse el tratamiento con IFN-α[59].

BIBLIOGRAFÍA

1. Waldenström J. Incipient myelomatosis or «essential» hyperglobulinemia with fibrinogenopenia: a new syndrome?. Acta Med Scand 1944; 117:216-247.
2. Waldenström J. Zwei interessante syndrome mit hyperglobulinaemia. Schweizerische Medizinische Wochenschrift 1948; 78:927-928.
3. Mackenzie MR. Macroglobulinemia. En: Neoplastic diseases of the blood. Wiernik PH, Canellos G, Kyle RA, Schiffer CA (eds.) Nueva York: Curchill Livingstone, 1991; 501-512.
4. Bergsagel DE. Macroglobulinemia. En: Williams WJ, Beutler E, Erslev A, Litchman MA (eds.) Hematology. 4ª ed. Nueva York: McGraw-Hill, 1990; 1141-1145.
5. Paladini G. Macroglobulinemia. En: Delamore IW (ed.) Multiple myeloma and other paraproteinaemias. Edimburgo: Churchill Livinstone, 1986; 204-233.
6. Kyle RA, Garton J. The spectrum of IgM monoclonal gammopathy in 430 cases. Mayo Clin Proc, 1987; 62:699-731.
7. BD, Bayrd ED, Harrison EG, McGukin WF. Primary macroglobulinemia. Review with a report on 31 cases and notes on the value of continuous clhorambucil therapy. Am J Med 1967; 43:394-434.
8. Mackenzie MR, Fudenberg HH. Macroglobulinemia: an analysis of 40 cases. Blood 1970; 39:874-889.
9. Seligmann M, Brouet JC. Macroglobulinemie de Waldenström. En: Bernard J, Lévy JP, Varet B (eds.) Hématologie. Paris: Flamarion, 1976.
10. Dimopoulos MA, Alexanian R. Waldenström's Macroglobulinemia. Blood 1994; 83:1452-1459.
11. Kyle RA. Waldenström's Macroglobulinemia. En: Malpas JS, Bergsagel DE, Kyle RA, Anderson KC (eds.) Myeloma: Biology and management. 2.ª ed. Oxford: Oxford University Press, 1998; 639-662.
12. Wanless IR, Solt LC, Kortan P, Deck JHN, Gardiner GW, Prokiphuk EJ. Nodular regenerative hyperplasia of the liver associated with macroglobulinemia. Am J Med 1981; 70:1203-1209.
13. Lorette G, Guilmot JL, Binet C, Carli-Basset C. Les manifestations cutanées des disglobulinémies. Sem Hop Paris 1981; 57:163-167.

CAPÍTULO 33

Fisiología y exploración de la hemostasia

J. Mateo, A. Santamaría y J. Fontcuberta

ÍNDICE

Fisiología de la hemostasia
Endotelio
Papel del endotelio en la coagulación y la fibrinólisis
Plaquetas
Adhesión y agregación plaquetaria
Activación plaquetaria
Secreción plaquetaria
Interacciones de las plaquetas y de los complejos enzimáticos de la coagulación
Interacciones plaqueta-leucocito-pared vascular
Coagulación
Factores de la coagulación
Inicio de la coagulación
Mecanismos reguladores
Sistema fibrinolítico
Introducción
Componentes del sistema fibrinolítico
Activación y regulación de la fibrinólisis fisiológica
Exploración de la hemostasia
Exploración de la hemostasia primaria
Tiempo de sangría
Función plaquetaria
Exploración de la cinética plaquetaria
Exploración de la adhesividad
Nuevas técnicas en la actualidad para el conocimiento de la función celular global de las plaquetas. Metodología transcriptómica y metodología proteómica
Métodos de estudio de la coagulación y fibrinólisis
Condiciones preanalíticas
Pruebas de hemostasia para el estudio de diátesis hemorrágica
Detección de inhibidores
Pruebas para valorar la tendencia trombótica
Otras pruebas
Exploración clínica de la hemostasia
Enfermedades hemorrágicas
Anamnesis
Exploración física
Enfermedad tromboembólica
Anamnesis y exploración física
Exploraciones complementarias
Investigación de trombofilia
Trombofilia secundaria
Bibliografía

FISIOLOGÍA DE LA HEMOSTASIA

Cuando en el organismo se produce una lesión capaz de producir una hemorragia, el sistema de la hemostasia se encarga de la reparación de las alteraciones producidas.

Inicialmente, la formación de un tapón o trombo plaquetario es parte fundamental de la hemostasia primaria, que proporcionan de manera provisional un sustrato anatómico capaz de detener la hemorragia tras el daño sufrido. Su formación depende en gran parte de las plaquetas, del endotelio vascular y de la interacción de las células sanguíneas con la pared vascular. Por tanto, el correcto desarrollo de todas las etapas hasta su formación está en función de la integridad y buen funcionamiento de todos sus componentes (fig. 33.1).

Endotelio

La superficie celular del endotelio en el adulto está compuesta, aproximadamente, por 1 a 6×10^{13} células, con un peso aproximado de 1 kg y una extensión de unos 10.000 m^2. Tiene varias funciones y, además de actuar como barrera estructural entre la circulación y el tejido que debe irrigar, también representa un papel importante en la regulación del flujo sanguíneo y en el transporte de la mayoría de las sustancias nutritivas, de moléculas activas con diferentes acciones y también de las células sanguíneas.

El endotelio contribuye a la regulación de la presión sanguínea y del flujo sanguíneo mediante la liberación de vasodilatadores como el óxido nitroso y la prostaciclina, y vasoconstrictores como la endotelina y el factor activador de plaquetas (PAF).

Papel del endotelio en la coagulación y la fibrinólisis

El endotelio lleva a cabo un papel fundamental dentro de la coagulación y la fibrinólisis[1,2]. Facilita el flujo sanguíneo y, para ello, dispone de una superficie antitrombótica que inhibe la adhesión y agregación plaquetaria y, por tanto, la formación de trombos en condiciones fisiológicas. Sin embargo, este equilibrio puede perturbarse por fenómenos físicos o químicos que dan lugar a cambios en el endotelio, transfor-

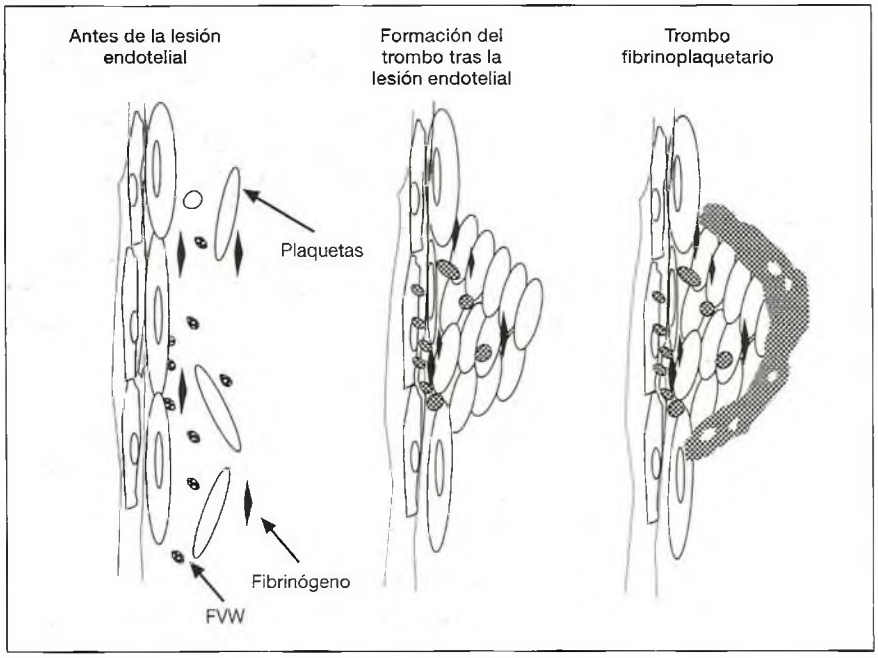


Figura 33.1. Interacciones para la formación del trombo hemostático entre las plaquetas y el subendotelio tras el daño endotelial. Las moléculas adhesivas, factor Von Willebrand y fibrógeno están implicadas en la formación del trombo plaquetario. La formación del trombo de fibrina requiere la conversión enzimática del fibrinógeno en fibrina.

mándose en una superficie protrombótica[1-3]. El endotelio, en función de la situación, puede presentar propiedades procoagulantes y anticoagulantes, lo que permite retornar al equilibrio hemostático, una vez haya desaparecido el estímulo procoagulante o hemorrágico.

Plaquetas[4-7]

Las plaquetas son pequeñas células discoides anucleadas, procedentes de la fragmentación del citoplasma de los megacariocitos medulares. Circulan por la sangre, y su función principal es taponar rápidamente cualquier solución de continuidad producida en el endotelio vascular, y activar el sistema de coagulación y fibrinólisis. Además, intervienen en otro tipo de procesos como la inflamación, la cicatrización de las heridas, la fibrosis, ateroesclerosis, trombosis, diseminación de metástasis, etc. Están formadas estructuralmente por la membrana plaquetaria, el citoplasma, el citoesqueleto, los gránulos específicos, los sistemas membranosos, incluyendo el sistema canalicular abierto, sistema tubular denso y complejos membranosos mixtos, y estructuras inespecíficas (fig. 33.2). En la membrana plaquetaria existen receptores tanto glucoproteicos como no glucoproteicos[6]. Las glucoproteínas de membrana actúan como receptores mediando, entre otras, dos funciones importantes: la adhesión de las plaquetas a la superficie vascular dañada y la interacción plaqueta-plaqueta o agregación plaquetaria. Las glucoproteínas plaquetarias más importantes desde el punto de vista de la hemostasia se exponen en la tabla 33.1.

Los receptores no glucoproteicos actúan regulando la activación y agregación plaquetaria. Esta acción se realiza mediante su unión al ADP, adrenalina (receptores adrenérgicos), trombina, los endoperóxidos prostaglandínicos, tromboxano A_2, y también a diferentes fármacos.

Es importante conocer que para la formación del trombo plaquetario estable, se llevan a cabo diversas interacciones y señales *in-out* entre plaquetas, que continúan tras las fases iniciales de activación plaquetaria. En estas señales se incluyen integrinas ($\alpha_{IIb}\beta_3$) y varias moléculas de adhesión, las CAM (moléculas de adhesión celular), entre ellas, las JAM (*junctional adhesion molecule*), la CD226 y ESAM (moléculas de adhesión específicas de células endoteliales) pertenecientes a las superfamilias de las Ig-*like*, que recientemente se han descrito en las plaquetas, ya que se pensaba que las plaquetas no contenían complejos de conjunción[7]. Otros componentes importantes en estas interacciones entre plaquetas son las proteínas secretadas; una de ellas es la llamada GAS-6 (*growth-arrest specific gene 6*), que se encuentra en los gránulos α. También son importantes algunos ligandos y sus receptores como el CD40 y el CD100. Estas interacciones plaqueta-plaqueta que incluyen varios componentes como las CAM, dan una idea de que la superficie plaquetaria es un punto de contacto muy activo[7]. Otro importante punto es la interacción entre el colágeno y las plaquetas, cuando se produce la lesión vascular. En ellas se incluye un gran repertorio de receptores, pero los más importantes son la GPIV, los GPV, GPVI, p65, la integrina $\alpha_2\beta_1$, y un nuevo receptor, el

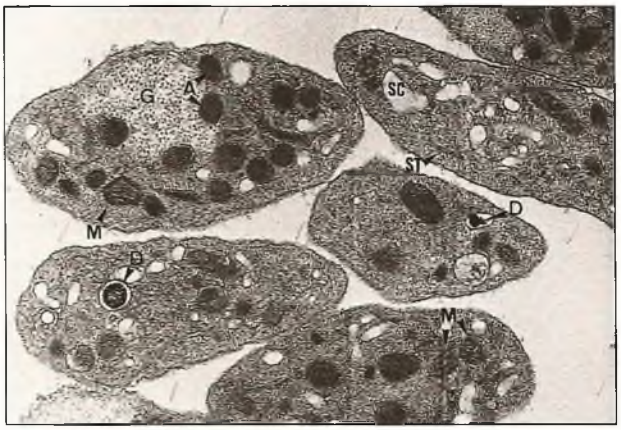


Figura 33.2. Microscopia electrónica de plaquetas discoides normales procedentes de una muestra obtenida con anticoagulante. (Gentileza de N. Pujol-Moix.)

TABLA 33.1

Glucoproteínas de membrana

Tipo de glucoproteína	Función principal
GPIa	Reacciona con el colágeno durante los primeros estadios de la adhesión plaquetaria
GPIb	1. Es el receptor del FVW en la adhesión plaquetaria 2. Interviene en el contacto de las plaquetas al subendotelio 3. Puede ser el receptor de la trombina
GPIIb-IIIa	1. Es el receptor del fibrinógeno, del FVW y de la fibronectina 2. Es mediador de la agregación plaquetaria
P-selectina	Se encuentra en los gránulos α de las plaquetas y se expresa en la superficie plaquetaria activada Mediadora de las interrelaciones con otras células
GPIV	Podría ser el receptor para el colágeno y la trombospondina

TII-ICBP. El GPIV y la integrina $\alpha_2\beta_1$ son las más estudiadas, y desempeñan un papel en el desarrollo de la enfermedad trombótica arterial[8].

Adhesión y agregación plaquetaria[9-13]

En condiciones hemostáticas, las plaquetas circulantes no interaccionan con la superficie endotelial. Sin embargo, durante una hemorragia, la adhesión de las plaquetas a la pared vascular dañada será el primer paso. Allí rápidamente se activarán y darán lugar a la formación del trombo plaquetario. El proceso de adhesión se puede dividir en una fase inicial de contacto y en una fase posterior de extensión de las plaquetas sobre el endotelio vascular. Este proceso es más eficaz en condiciones de flujo sanguíneo, ya que las plaquetas se disponen en la periferia del flujo sanguíneo, y aumenta su disponibilidad cerca de la pared vascular. En estas condiciones, las plaquetas inactivadas se unen al subendotelio a través de interacciones entre el complejo glucoproteico plaquetario Ib-IX-V con el factor Von Willebrand (FVW) que se encuentra tanto en el plasma como en la pared vascular. El FVW y la GP Ib se unirán por zonas de anclaje para las fibras de colágeno tipo I y III que quedan expuestas en el subendotelio. Una vez las plaquetas se adhieren a través de la GP Ib, se produce la activación plaquetaria mediante productos de secreción como el ADP, la adrenalina, el colágeno, y se producirá un cambio conformacional en la glucoproteína de membrana GPIIb-IIIa. Este hecho favorecerá la interacción de las plaquetas con el FVW y, por tanto, la extensión de las plaquetas sobre el subendotelio. El cambio conformacional también permitirá la interacción de la GPIIb-IIIa con el fibrinógeno, lo que facilitará la agregación de las plaquetas. Durante todos estos procesos de adhesión y agregación, se produce, debido a cambios en el estado de polimerización del citoesqueleto plaquetario, un cambio de forma de la plaqueta, que pasa de la discoidal a la esférica y desarrolla prolongaciones seudopódicas, y la secreción activa del contenido de los gránulos plaquetarios (reacción de liberación). La agregación plaquetaria requiere la presencia de cationes (Ca^{++}) y fibrinógeno. La unión de la GPIIb-IIIa con el fibrinógeno forma puentes entre las plaquetas y, de esta manera, se produce la agregación. Las integrinas también participan en la agregación y crecimiento del trombo plaquetario. La integrina más conocida es la $\alpha_{IIb}\beta_3$, y las proteínas como la talina, el CD98 o la filamina se unen a la subunidad β_3, y otras proteínas como la AUP-1 (*ancient ubiquitous protein-1*) se unen a la subunidad α_{IIb}, y otras como la CD47 o la CD36 (que funciona como receptor de la trombospondina, colágeno o LDL-lipoproteína) se unen a $\alpha_{IIb}\beta_3$[13].

Los productos liberados inducen la activación de las plaquetas circulantes que, a su vez, facilita la formación de agregados plaquetarios. A medida que se va generando la trombina, que convertirá el fibrinógeno en fibrina, los agregados de plaquetas se contraen más y fortalecen la unión del trombo plaquetario.

Activación plaquetaria[8-14]

La activación plaquetaria es un proceso bastante complejo que se inicia en la superficie de la célula, mediante la interacción de un agonista con su receptor, generalmente una glucoproteína de membrana. La presencia de ligandos en la superficie plaquetaria y de receptores para estos ligandos, como el CD40 y el CD100, que son proteínas de transmembrana que se colocan en la superficie plaquetaria durante la activación plaqueta-plaqueta, facilita el mantenimiento del trombo plaquetario[7].

En las interacciones entre los receptores de superficie y los diferentes efectores intracelulares como la adenilciclasa y las fosfolipasas A_2 y C, se necesita un grupo de proteínas reguladoras, las proteínas G. Dentro de estas proteínas, las Gs y la Gi son las encargadas de la regulación de los niveles celulares de AMPc, estimulando e inhibiendo, respectivamente, la adenilciclasa en las plaquetas. Los agentes que aumentan los niveles de AMPc, como la prostaglandina PGI_2 y la PGE_1, lo hacen a través de las Gs, mientras que a través de la Gi, los agonistas como la trombina y la adrenalina, inhiben el AMPc. La Gq, estimula la fosfolipasa C, mientras que la proteína G implicada en la estimulación de la fosfolipasa A_2, todavía no se conoce exactamente (fig. 33.3). La transducción de la señal se realiza a través de los segundos mensajeros. Dos vías intracelulares están implicadas en la activación: la vía de los fosfoinositoles y la vía metabólica del ácido araquidónico. Ambas vías se inician con la hidrólisis enzimática de los fosfolípidos específicos de la membrana plaquetaria. Mediante estas dos vías se forman los segundos mensajeros, encargados de la transducción de las señales implicadas en la secreción y activación plaquetaria (v. fig. 33.3). Los receptores de los nucleótidos de adenina (ADP) y del tromboxano A_2, juegan un papel crucial en la formación del trombo. Estas vías son estudiadas en la actualidad como dianas de fármacos antitrombóticos[14].

Vía de los inositoles

Se inicia por la acción de la fosfolipasa C, que al actuar sobre el fosfatidilinositol-difosfato (PIP_2), se formarán los segundos mensajeros como el inosotol-trifosfato (IP_3), el diacilglicerol (DG) y el ácido fosfatídico. También mediante esta vía se produce la liberación de Ca^{++}, que es un segundo mensajero que afecta a la actividad de muchas enzimas. El DG actúa

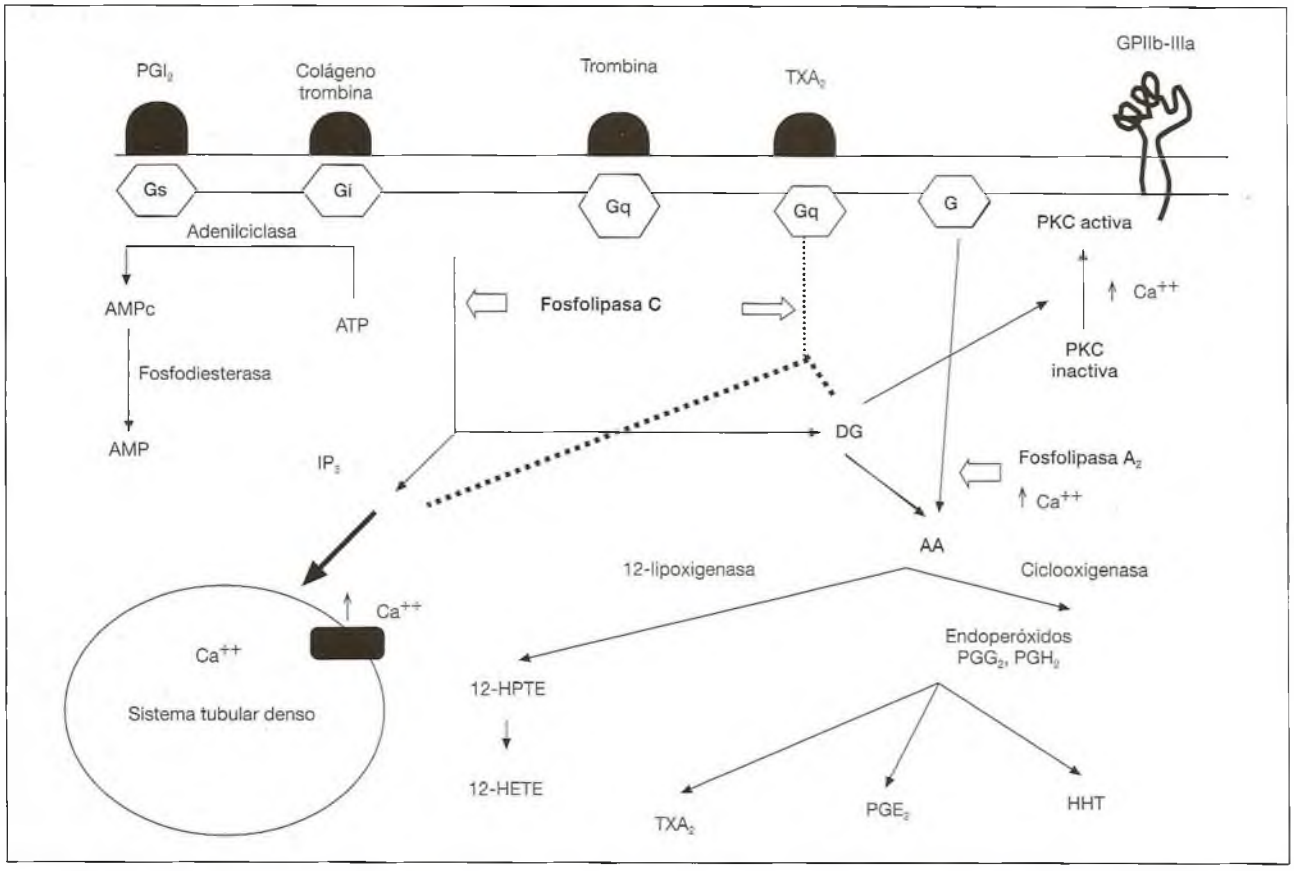


Figura 33.3. Representación de las principales vías de activación plaquetaria y transducción de señales. Las interacciones entre los receptores y sus diferentes agonistas y enzimas responsables de la formación de segundos mensajeros, están mediadas por proteínas G. Las proteínas G regulan la hidrólisis de los inositoles y la formación de AMPc. También se encargan de activar la fosfolipasa A_2 y la fosfolipasa C, que a su vez darán lugar a la liberación y metabolismo del ácido araquidónico (AA). El diacilglicerol (DG), además de liberar el AA, activa la proteincinasa (PKC) y favorece la secreción y la exposición del receptor del fibrinógeno (GPIIb-IIIa). El tromboxano A_2 (TXA_2) formado a partir del AA, difundirá hacia fuera de la plaqueta para unirse a su receptor y así amplificar el proceso.

como cofactor de la proteincinasa (PKC), la cual, a su vez, está implicada en la secreción de las plaquetas, al igual que el ácido fosfatídico.

Vía metabólica del ácido araquidónico

La segunda vía importante en la transducción de señales en las plaquetas es la del ácido araquidónico (AA). El AA es el ácido graso poliinsaturado más abundante. Su metabolismo requiere, ante todo, la acción de lipasas que liberan el ácido graso al medio intracelular. La fosfolipasa A_2 y el diacilglicerol liberan el AA. Éste puede ser oxidado vía de la lipoxigenasa hacia la producción de 12-HETE (12-hidroxi-eicosatetraenoico). Este producto es un potente agente quimiotáctico para los macrófagos y los neutrófilos, y parece que estaría implicado en la adhesión de las plaquetas. El AA también puede ser oxidado vía ciclooxigenasa, dando lugar a los endoperóxidos cíclicos, que son los precursores de los prostanoides. Dentro de éstos, se encuentra principalmente el tromboxano A_2, un potente inductor de la agregación plaquetaria, de la contracción de la musculatura vascular y respiratoria, y que también induce el cambio de forma y la secreción plaquetaria. Otro prostanoide importante es la prostaciclina (PGI_2) y otras PG, que aumentan el AMPc al activar la adenilciclasa, y tienen, por tanto, efectos opuestos al tromboxano A_2.

Receptores plaquetarios de los nucleótidos de adenina y del tromboxano A_2[14]

Se han descrito dos tipos de receptores, los P2 y los TP (receptores del tromboxano A_2). Dentro de la familia de los receptores P2, existen tres tipos de receptores. Los $P2X_1$, que son receptores del ATP y median en el cambio conformacional de las plaquetas durante la formación del trombo en arteriolas pequeñas. Los $P2Y_1$, receptores activados por el ADP, que tienen un papel crucial en el cambio conformacional plaquetario durante la activación plaquetaria. Son necesarios para la activación mediada por el ADP de la fosfolipasa A_2 y la generación de tromboxano A_2. También parecen tener una acción protrombótica, ya que en diferentes experimentos animales se ha descrito que la sobreexpresión de este receptor induce hiperactividad plaquetaria. El tercer tipo, los $P2Y_{12}$, son esenciales en la agregación plaquetaria mediada por ADP y tromboxano A_2. Además, parece desempeñar un papel importante en la formación del trombo plaquetario en condiciones reológicas de alto flujo, en la adhesión-activación plaquetaria y estabilización del trombo. Además, es la diana de los antiagregantes de la familia de las tienopiridinas (ticlopidina y clopidogrel).

Los TP receptores se presentan en dos isoformas, TPα (la isoforma predominante) y TPβ. Su importancia reside tanto en su papel como receptores del tromboxano A_2, como en la posible utilización de antagonistas de estos receptores para

prevenir la enfermedad tromboembólica arterial, como el infarto de miocardio.

Secreción plaquetaria[8-15]

La plaqueta, como consecuencia de la interacción con los elementos del subendotelio, sufre un proceso de activación que incluye una reestructuración de la membrana celular, de manera que la disposición de las glucoproteínas de membrana sea más funcional, convirtiéndolas en un soporte eficaz para el asentamiento de los factores de la coagulación, lo que llevará a la formación de trombina, reforzando de este modo, la estimulación de las plaquetas. Todo este proceso va acompañado de un cambio de forma, de discoidal a esférica, y de la secreción del contenido de los gránulos. Para la secreción se precisan dos mecanismos fundamentales: la centralización de los gránulos por contracción del complejo actina-miosina, y el establecimiento de una comunicación entre los gránulos y el sistema canalicular abierto. El contenido de cada uno de estos compartimentos granulares plaquetarios es diferente. Los gránulos α contienen proteínas e hidratos de carbono; entre ellos destacan el factor 4 plaquetario, la β-tromboglobulina, el fibrinógeno, el FvW, el GAS-6, el factor V, el factor VIII, la α-macroglobulina, el plasminógeno, la PAI-1, la proteasa nexina-2 y otros[7,15]. El GAS-6 es una proteína relacionada con la proteína S y, como ella, es vitamino-K dependiente, y se observa en varios tejidos. El GAS-6 plaquetario se secreta tras la activación de la trombina, el ADP o el colágeno, y se une a varios ligandos. Participa en la estabilización del trombo plaquetario.

Los gránulos densos contienen fosfato inorgánico, adeninnucleótidos y aminas biógenas. Entre ellos, el ADP, ATP, GTP, GDP, Ca^{++} y la serotonina.

Interacciones de las plaquetas y de los complejos enzimáticos de la coagulación[16]

Además de su importancia en el ensamblaje de los factores de coagulación y los complejos que éstos forman, en la actualidad se sabe que las plaquetas desempeñan un papel relevante en la activación y propagación de la coagulación hasta la formación del trombo de fibrina. La vía del factor tisular (TF) activa el receptor PAR, y éste interacciona con el factor XI. El factor XIa interacciona con las plaquetas ya activadas, con el factor IX, y la proteasa nexina-2. Luego siguen todas las interacciones de las plaquetas activadas con los diferentes factores de la coagulación, como el FX y el FVIIIa, FVa y la protrombina. Además, se ha descrito el factor XI plaquetario, detectado en la membrana plaquetaria y que supone el 0,5% de la actividad plasmática del FXI. Es diferente al FXI plasmático, ya que hay evidencias de que el mRNA del factor XI está presente en las plaquetas y es diferente al mRNA del hígado, que produce el FXI plasmático. Se supone que sería una de las causas por las que las deficiencias de FXI dan diferentes patrones de expresión de enfermedad hemorrágica.

Con todos estos datos, se ha revisado el concepto de la típica cascada de la coagulación, en la que las plaquetas no sólo aportarían la superficie fosfolipídica sino que su participación en su forma activada está presente durante todos los procesos.

Interacciones plaqueta-leucocito-pared vascular[1,17,18]

Las plaquetas representan un papel muy importante, como ya se ha explicado anteriormente, en la formación del trombo plaquetario mediante la adhesión y la agregación plaquetaria, y también mediante interacciones con los leucocitos, la pared vascular y las células musculares. La interacción entre leucocitos y el endotelio dará lugar a una serie de contactos entre receptores y ligandos bidireccionales que será esencial en los procesos inflamatorios. Las plaquetas, además de establecer contactos con el subendotelio, también pueden adherirse y activar al endotelio. En las interacciones que establecerán las plaquetas con los leucocitos y el endotelio, en situación fisiopatológica, desempeñan un papel fundamental las micropartículas plaquetarias. Éstas se forman a partir de un fenómeno de vesiculación de las plaquetas activadas por agonistas como la trombina, el colágeno, etc. Las micropartículas pueden por sí mismas inducir la adhesión de los monocitos al endotelio y amplificar todas las señales que darán lugar a un aumento de la actividad de las moléculas de adhesión, que culminará en la expresión del factor tisular y su transformación en una superficie protrombótica.

Coagulación

La coagulación es el conjunto de reacciones que conducen a la formación de fibrina, proteína insoluble que evita la pérdida de sangre cuando se lesiona un vaso. Según su función, estas reacciones se pueden clasificar en: *a*) *procoagulantes*, que conducen a la formación de la fibrina, evitando la pérdida de sangre; *b*) *anticoagulantes*, que regulan o controlan la coagulación e impiden que los factores activados generados en el punto de hemorragia extiendan su acción y se produzca una coagulación generalizada, y *c*) *fibrinolíticas*, que son las encargadas de eliminar la fibrina cuando ya no es necesaria para evitar la pérdida de sangre, restableciendo el flujo sanguíneo.

Factores de la coagulación[19,20]

La mayoría de los factores de la coagulación son proteínas que se encuentran en la sangre como zimógenos inactivos y que pueden ser activados y transformados en enzimas con actividad serín-proteasa mediante proteólisis limitada. Estas activaciones se realizan en una serie de reacciones encadenadas en las que el producto de la primera reacción funciona como enzima para la segunda reacción, y el producto de la segunda funciona como enzima para la tercera, etc.

La mayoría de los factores de la coagulación se sintetizan en el hígado. Entre ellos, los factores II, VII, IX, X, proteína C y proteína S necesitan la vitamina K para su síntesis completa. Estos últimos, llamados factores vitamina-K dependientes, precisan una carboxilación de los residuos de ácido glutámico (Glu) en una reacción en la que actúa como cofactor la vitamina K. Esta transformación les confiere una gran afinidad por los fosfolípidos. De esta manera, las reacciones entre factores que en fase fluida serían muy poco eficientes, se realizan sobre superficies fosfolipídicas (membranas celulares) formando complejos enzimáticos que aumentan considerablemente la eficiencia de la reacción.

Aparte de los precursores de serín-proteasas, hay otras proteínas que no tienen actividad por sí mismas, pero que actúan como cofactores en los complejos enzimáticos, aumentando la eficiencia de la reacción. Son, por un lado, los factores plasmáticos V y VIII que, una vez han sufrido una pequeña proteólisis por la trombina, forman parte de los complejos protrombinasa (Va-Xa-II) y X-asa (VIIIa-IXa-X). Por

otro lado, están las proteínas de membrana: factor tisular (TF), la trombomodulina (TM), que actúan en los complejos VIIa-TF-X y trombina-TM-proteína C, y el receptor endotelial de la proteína C.

Actualmente, se acepta que el mecanismo hemostático fisiológicamente relevante está asociado fundamentalmente con tres complejos enzimáticos procoagulantes, formados por proteínas con actividad serín-proteasa y vitamina-K dependientes, reunidas sobre una superficie fosfolipídica y asociadas con cofactores que también están unidos a la membrana. En cada caso, el complejo enzimático conduce a un incremento significativo (10^5-10^6 veces) de la velocidad de reacción en la activación del sustrato. La formación de estos complejos catalíticos sobre la membrana celular sitúa la actividad proteolítica en el punto en que las células dañadas del vaso, o las células activadas de sangre periférica, aportan el sitio requerido para la formación del complejo. El requerimiento de complejos enzimáticos para desarrollar la actividad catalítica atenúa la propagación de las reacciones de coagulación lejos del sitio donde se ha iniciado. En la tabla 33.2 se muestran los principales factores y reguladores de la coagulación.

TABLA 33.2

Factores y reguladores de la coagulación

Proteína	Concentración plasmática (nM)	Vida media (días)
Protrombina (Factor II)	1.400	2,5
Factor V	20	0,5
Factor VII	10	0,25
Factor VIII	0,7	0,3-0,5
Factor IX	90	1
Factor X	170	1,25
Factor XI	30	2,5-3,3
Factor XII	375	2-3
Quininógeno de alto peso molecular	6.000	5
Precalicreína	450	–
Factor XIIIa	70	9-10
Factor tisular	–	–
Proteína C	60	0,25
Proteína S	300	1,75
Trombomodulina	–	–
Fibrinógeno	8.800	3-5
Antitrombina	2.400	2,5-4
Cofactor II de la heparina	1.200	2,5
TFPI (inhibidor de la vía del factor tisular)	2,5	–
TAFI (inhibidor de la fibrinólisis activado por la trombina)	73	–

Inicio de la coagulación (v. fig. 33.4)

Vía del factor tisular[21,22]

El factor tisular (TF) es una proteína que atraviesa la membrana celular y forma parte de la familia de receptores de citocinas. Bajo condiciones normales, no está en contacto con el plasma ni en las células de la sangre ni en el endotelio. Se detecta en la adventicia que rodea los vasos sanguíneos y en tejidos del cerebro, pulmones, músculo y otros órganos. Entra en contacto con la sangre cuando se lesiona el vaso, o cuando se activan las células endoteliales vasculares o monocitos mediante citocinas proinflamatorias.

Aproximadamente un 1-2% del factor VII circula en plasma en forma activada, aunque su lugar activo no se expresa eficientemente a menos que se una al factor tisular. Cuando el factor tisular entra en contacto con la sangre, el factor VIIa circulante se une rápidamente a él y se inicia la coagulación activando al factor X y al factor IX. El factor Xa también activa al factor IX, acelerando el proceso de formación de IXa. El factor IXa forma un segundo complejo con el factor VIIIa y el factor X (complejo X-asa) formando factor Xa de una forma 50 veces más eficientemente que el que se forma en el complejo TF-VIIa-X. El factor Xa formado por cualesquiera de las dos fuentes forma un complejo con el factor Va y el factor II o

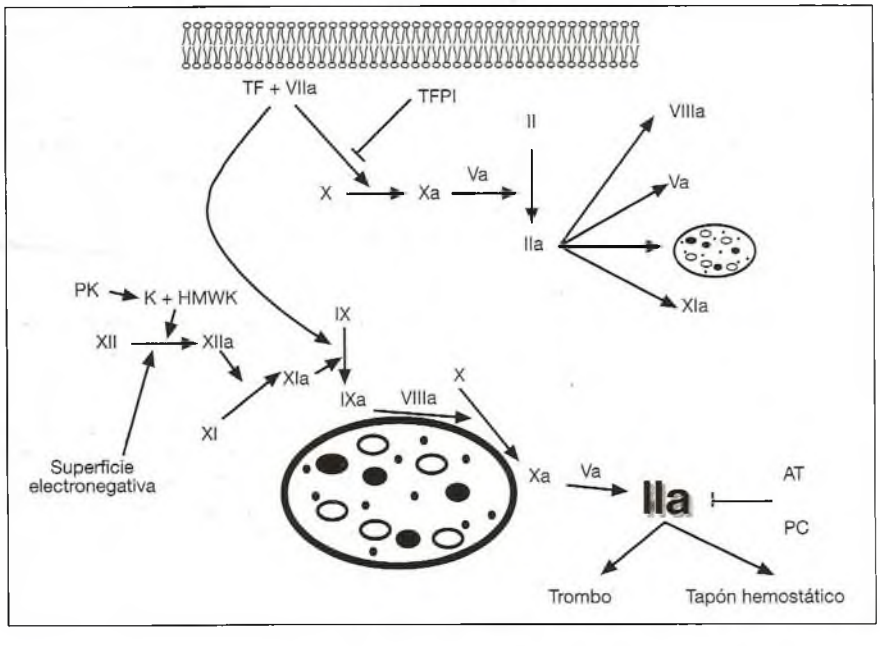


Figura 33.4. Representación esquemática de las reacciones de la coagulación, con el inicio por la vía del factor tisular y por la fase de contacto. Las reacciones convergen en la formación de trombina (IIa), la enzima principal del proceso. Tras la formación de fibrina, se forma bien un tapón hemostático o bien un trombo.

protrombina (complejo protrombinasa) para transformarla en trombina.

El factor Xa producido mediante el complejo TF-VII-X, puede generar una pequeña cantidad de trombina pero es una reacción poco eficiente. Sin embargo, una vez producida, la trombina y el factor Xa formados activan pequeñas cantidades de factor V, de factor VIII y a las plaquetas. La activación de estos dos cofactores es esencial para que los complejos catalíticos IXa-VIIIa-X (X-asa) y Xa-Va-II (protrombinasa) sean eficientes para convertir el factor X a Xa y el factor II a IIa, respectivamente.

El inicio de la coagulación está regulado por el TFPI (*tissue factor pathway inhibitor*) lipoproteína que inhibe el complejo Xa-TF-VIIa y limita la producción de Xa y IXa por esta vía. Cuando ocurre esto, el factor Xa sólo puede producirse por el complejo IXa-VIIIa-X. De ahí la importancia de los factores VIII y IX en la hemostasia y la diátesis hemorrágica que acompaña a su déficit.

Vía intrínseca[23]

La vía intrínseca de la coagulación no parece tener mucha importancia en el inicio de la coagulación, pero participa en el crecimiento y mantenimiento del coágulo (fig. 33.4). La activación de esta vía se inicia cuando el factor XI se activa ya sea por trazas de trombina o bien por la activación de lo que se conoce como *fase de contacto*[24]. Ésta se inicia cuando el plasma entra en contacto con una superficie cargada negativamente, como fibras de colágeno o superficies externas como el cristal, el caolín, etc. El factor XII se activa, y el XIIa activa a la precalicreína. La calicreína formada, junto con el quininógeno de alto peso molecular, amplifican la activación del factor XII que, a su vez, activa al factor XI.

El factor XIa formado por la vía que sea, activa al factor IX a IXa en presencia de calcio, hidrolizando el mismo enlace peptídico que rompe el complejo TF-VIIa. De esta manera, se continúa y amplifica el proceso como se ha descrito antes. El descubrimiento de la activación del factor XI de forma independiente del factor XII, precalicreína y del quininógeno de alto peso molecular, ayuda a clarificar el papel del factor XI en la vía intrínseca y explica que pacientes con déficit importante de factor XI sufran diátesis hemorrágica, mientras que esto no ocurre en individuos con deficiencias de factor XII, precalicreína o quininógeno de alto peso molecular. Estas tres últimas proteínas están implicadas en la activación del factor XI cuando el plasma entra en contacto *in vitro* con superficies cargadas negativamente como el cristal o el caolín, y podrían ser importantes cuando la sangre entra en contacto con superficies artificiales como prótesis vasculares, válvulas cardíacas o circuitos extracorpóreos.

El factor Von Willebrand (FVW) es una proteína multimérica de elevado peso molecular que circula en plasma unido al factor VIII. Se sintetiza en el endotelio y en los megacariocitos, y es transportado por las plaquetas. De ellas se libera por diferentes estímulos (estrés, ejercicio, hormonas, etc.) pasando a la sangre, donde se une al factor VIII. Su actividad contribuye al fenómeno de adhesión plaquetaria, actuando como puente entre la plaqueta y el subendotelio. En una primera reacción, el FVW se une al colágeno del subendotelio vascular y a continuación sufre algunos cambios críticos que le permiten unirse al receptor plaquetario glucoproteína Ib. Las glucoproteínas IIb y IIIa plaquetarias también se unen al FVW cuando han sido estimuladas.

La trombina es la enzima que se genera al final del proceso de la coagulación que es capaz de transformar una proteína soluble, el fibrinógeno, en una red polimérica insoluble: la fibrina. Además, activa al factor XI, a las plaquetas, al factor XIII y a los cofactores V y VIII. Tiene una gran afinidad por la trombomodulina que se encuentra en el endotelio. Al unirse a la trombomodulina, forma un complejo, pierde sus propiedades procoagulantes y adquiere otras anticoagulantes, ya que activa a la proteína C. Un efecto recientemente identificado de la trombina unida a la trombomodulina es su capacidad para inhibir la fibrinólisis mediante la activación del TAFI (*thrombin activatable fibrinolysis inhibitor*).

Formación de fibrina[25,26]

El fibrinógeno es una glucoproteína de 340 kDa sintetizada en el hígado. Tiene una vida media de unos 3-5 días, y en el plasma se encuentra en una concentración de 2-4 g/L. La molécula (fig. 33.5) está compuesta por dos mitades simétricas cada una formada por tres tipos de cadenas polipeptídicas: Aα, Bβ y γ, que difieren entre ellas por la secuencia de aminoácidos y por su tamaño. Las tres cadenas se unen entre ellas por puentes disulfuro. Las dos mitades de cada molécula están unidas por el dominio aminoterminal, mediante tres puentes disulfuro, dos de los cuales están entre las cadenas γ y otro entre las cadenas α. La zona aminoterminal o central de la molécula se conoce como dominio E, y las dos zonas que comprenden las partes carboxiterminales se conocen como dominios D. La conversión del fibrinógeno en fibrina se realiza en tres etapas (fig. 33.6). Primero, la trombina rompe el enlace Arg16-Gly17 de la cadena α liberando el fibrinopéptido A (Ala1-Gly16). A continuación, la trombina rompe el enlace Arg14-Gly15 de la cadena β liberando el fibrinopéptido B (Gly1-Arg14) y se forma el monómero de fibrina. Tras la liberación de los fibrinopéptidos, la molécula muestra lugares de polimerización en la zona aminoterminal de las cadenas α y β que reaccionan con estructuras comple-

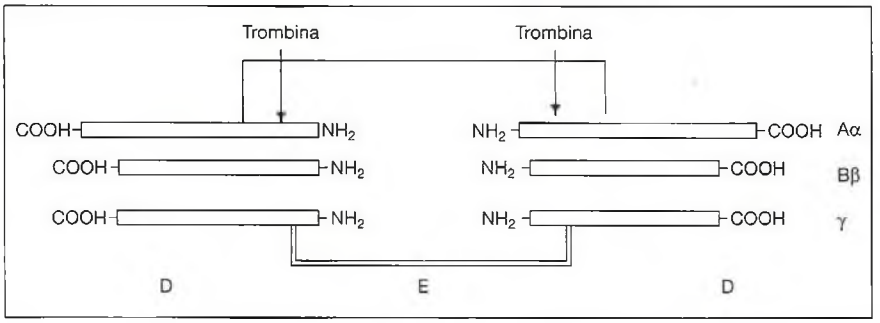


Figura 33.5. Molécula de fibrinógeno con las tres cadenas Aα, Bβ y γ, y los tres dominios D, E, D (D: carboxiterminal y E: aminoterminal). La trombina rompe el enlace Arg16-Gly17 de la cadena α liberando el fibrinopéptico A y el enlace Arg14-Gly15 de la cadena β liberando el fibrinopéptido B formándose el monómero de fibrina.

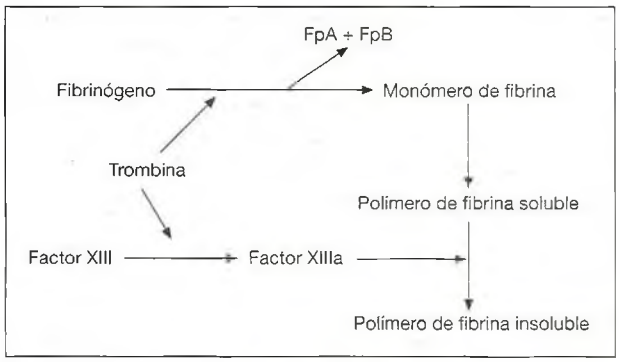


Figura 33.6. Conversión del fibrinógeno en fibrina.

mentarias en la zona carboxiterminal de la cadena γ. De esta manera, los dominios D de una molécula interaccionan con la zona E de otra molécula, formándose una fibra de dos hebras en la que los monómeros están solapados. A continuación, se produce una asociación lateral de las fibras, aumentando su grosor (fig. 33.7). Finalmente, en presencia del factor XIIIa, la fibrina que inicialmente estaba unida por interacciones no covalentes, sufre una serie de uniones intermoleculares mediante la formación de enlaces entre residuos lisina de una cadena γ y glutamina de otra. Posteriormente, se realizan otros enlaces entre las cadenas α y entre cadenas α y γ. La incorporación de estos enlaces covalentes entre las fibras de fibrina aporta una mayor resistencia a la degradación por plasmina, así como una mayor resistencia y elasticidad del coágulo.

Mecanismos reguladores[23,27]

Los mecanismos que regulan la hemostasia son fundamentalmente de dos tipos:

1. Los inhibidores de serín-proteasas, que inhiben los factores activados: antitrombina, cofactor II de la heparina, TFPI, α_2-macroglobulina, inhibidor de la proteína C activada, inhibidor del C1-esterasa y α_1-antitripsina.
2. Los reguladores de los cofactores activados: vía de la proteína C (proteína C, proteína S y trombomodulina).

Antitrombina (AT)[28]

Es un inhibidor de serín-proteasas sintetizado en el hígado, que se encuentra en el plasma en una concentración de 2,4 μM. Es el principal inhibidor de la trombina y del factor Xa, pero también inactiva los factores IXa, XIa, XIIa, calicreína y plasmina. También inhibe al factor VIIa unido al factor tisular. La actividad inhibitoria se incrementa unas 1.000 veces en presencia de heparina que, *in vivo*, tiene su equivalente en un proteoglucano, el sulfato de heparán, presente en el endotelio vascular.

La molécula de antitrombina se une a la molécula de heparina a través de una secuencia discontinua de residuos básicos (Lys, Arg) en la zona aminoterminal. La trombina se une también a la cadena de heparina, de una manera no específica, mediante enlaces electrostáticos. De esta manera, se forman complejos ternarios heparina-AT-trombina en los que el lugar activo de la trombina se acerca al sitio reactivo de la AT. Inicialmente, la trombina rompe el enlace Arg 393-Ser 394 en el sitio reactivo de la AT; esto produce un cambio conformacional de la AT que atrapa de forma irreversible a la trombina. Una vez formado, el complejo AT-trombina se libera a la circulación y forma complejos ternarios con la vitronectina. Se cree que estos complejos ternarios se eliminan de la circulación por unión a los proteoglucanos sulfato de heparán, que son posteriormente internalizados. El factor Xa y otros factores activados de la coagulación se unen sólo débilmente a la heparina, y son inhibidos por el complejo heparina-AT gracias al cambio conformacional que induce la heparina en la AT (fig. 33.8).

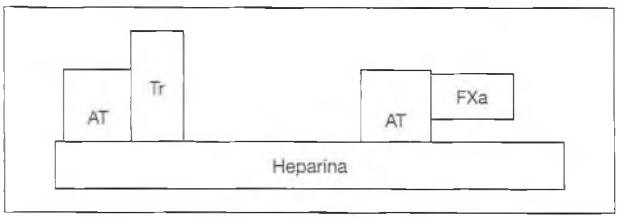


Figura 33.8. Inhibición de la trombina y el factor Xa por la antitrombina en presencia de heparina.

Cofactor II de la heparina

Es un inhibidor de serín-proteasas con una homología del 25% con la AT. Se sintetiza en el hígado. En sangre, se encuentra en una concentración de 1,2 μM. A diferencia de la AT, sólo inhibe a la trombina y no a otros factores activados. Su acción inhibitoria se incrementa extraordinariamente en presencia de glucosaminoglucanos, pero el estímulo más potente es el sulfato de dermatán, que difiere del sulfato de heparán por la composición del disacárido (D-galactosamina en lugar de D-glucosamina).

TFPI[22]

Este inhibidor (*tissue factor pathway inhibitor*) tiene especial importancia en la regulación del inicio de la coagulación. A diferencia de otros inhibidores de factores activados no pertenece a la familia de serín-proteasas. Posee tres dominios inhibidores de tipo *Kunitz*. En condiciones normales, el TFPI circula en plasma mayoritariamente unido a lipoproteínas, y un 5-10% en forma libre. Después de la administración de heparina, los niveles plasmáticos de TFPI se incrementan en 2-8 veces. Este TFPI que se libera del endotelio no parece estar asociado con las lipoproteínas. Una pequeña parte de TFPI está asociado con las plaquetas y se libera cuando se activan por la trombina.

La actividad anticoagulante del TFPI se desarrolla en dos etapas (fig. 33.9): en la primera se forma un complejo reversible estequiométrico 1:1 con el factor Xa produciendo la pérdida de actividad catalítica del factor Xa; en la segunda

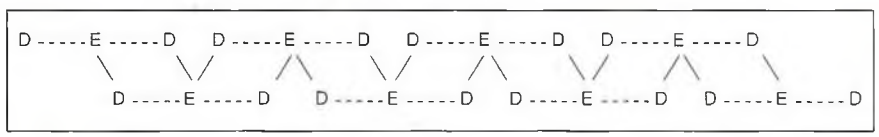


Figura 33.7. Polimerización de los monómeros de fibrina según el modelo de medio solapamiento.

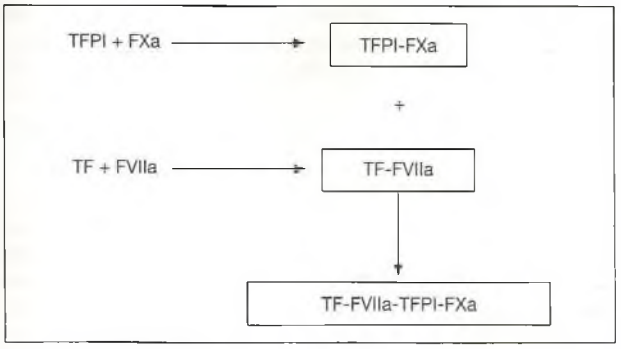


Figura 33.9. Actividad inhibitoria del inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI).

etapa este complejo binario se une al factor VIIa-TF unido a la membrana en una reacción que necesita calcio, formándose el complejo cuaternario Xa-TFPI-VIIa-TF, resultando la pérdida de actividad catalítica del factor VIIa-TF.

Vía anticoagulante de la proteína C[27-29]

Proteína C (PC). Es una glucoproteína vitamina-K dependiente, sintetizada en el hígado, que circula en plasma a una concentración de 50-80 nM. Es el precursor de una serín-proteasa, y contiene residuos γ-carboxilados que le confieren la capacidad de unirse a los fosfolípidos mediante el calcio. Una vez activada, la proteína C (PCA) se une a los fosfolípidos de membrana o al receptor endotelial de la proteína C y actúa como un potente anticoagulante, degradando los factores Va y VIIIa. En esta actividad proteolítica actúan como cofactores la proteína S y el propio factor V.

Trombomodulina (TM). Es una proteína integral de membrana endotelial. Consta de una zona aminoterminal parecida a la lectina (*lectin-like domain*), seguida de seis dominios similares al factor de crecimiento epitelial (EGF), un dominio rico en los aminoácidos serina y treonina, un dominio transmembrana, y una cola citoplasmática. El 5.° y 6.° EGF son esenciales para la unión a la trombina, mientras que la unión calcio-dependiente a la proteína C requiere la región que une el 3.° y 4.° EGF. En el residuo Ser 474, la TM contiene una cadena de sulfato de condroitín. Se ha identificado TM humana en diferentes tejidos como vasos linfáticos, placenta, plaquetas, megacariocitos, macrófagos, neutrófilos y células musculares. En la vasculatura, se localiza principalmente en los capilares, y en menor cantidad, en las arterias y venas. La actividad anticoagulante de la TM consiste en que tras su unión a la trombina, neutraliza la actividad procoagulante de ésta, y el complejo formado activa la proteína C. La trombina se une con gran afinidad a la trombomodulina. Una vez unida, la trombina pierde su actividad procoagulante: no transforma el fibrinógeno en fibrina, no activa el factor V, el VIII ni el XIII y tampoco activa las plaquetas ni las células endoteliales. Además, la TM ejerce una actividad parecida a la heparina, acelerando la neutralización de la trombina por diferentes inhibidores de proteasas como la antitrombina, cofactor II de la heparina, etc. La TM induce un cambio conformacional en la trombina, resultando un eficiente reconocimiento y activación de la proteína C. La expresión de TM en la superficie endotelial es susceptible a diversas situaciones patológicas: disminuye por diversos agentes inflamatorios como el factor de necrosis tumoral (TNF), la interleucina-1 (IL-1), endotoxinas bacterianas, hipoxia, etc.

Proteína S (PS). Es una glucoproteína vitamina-K dependiente. Se sintetiza en el hígado, pero también en las células endoteliales, megacariocitos, osteoclastos y células de Leydig testiculares. Se encuentra en el plasma a una concentración de 250-350 nM. Está formada por un dominio C-terminal homólogo a la proteína que une a los andrógenos (*androgen binding protein*), cuatro EGF, un dominio sensible a la trombina, y un dominio Gla aminoterminal que le facilita su unión al calcio y a la membrana celular. La unión al calcio protege a la PS de la degradación por la trombina y, además, induce un cambio de conformación que es necesario para que actúe como cofactor de la PCA. La interacción con la PCA se cree que se realiza mediante el dominio sensible a la trombina y al EGF. La zona similar al transportador de andrógenos está relacionada con la unión al C4b *binding protein* (C4bBP). El C4bBP es una glucoproteína de alto peso molecular, reguladora del complemento, reactante de fase aguda, formada por siete subunidades α idénticas y una subunidad β. Las subunidades α se unen a la subunidad C4b del complemento, y la subunidad β se une a la proteína S. En el plasma, el 40% de PS circula libre y posee actividad cofactor para la PCA. El 60% restante está unido al C4bBP, y en esta forma no participa en la actividad anticoagulante de la PCA.

Mecanismo anticoagulante de la PC. Este mecanismo se inicia cuando se genera una pequeña cantidad de trombina (fig. 33.10). Ésta se une a la trombomodulina, y el complejo trombina-trombomodulina activa a la proteína C unida a los fosfolípidos de membrana o al receptor endotelial de la PC. La PC activada junto con la proteína S y el factor V que actúan como cofactores, tiene como principal sustrato al factor Va, al que degrada rompiendo dos enlaces: el primero, en la Arg506, que produce una rápida pero incompleta pérdida de actividad, y después, en la Arg306, con lo que la inactivación del factor Va es completa. La PC activada también lisa el enlace Arg679 pero no parece inactivar al factor Va. Una alteración en la molécula del factor V relativamente frecuente y asociada con trombofilia es el factor V Leiden. Consiste en un factor V en el que el aminoácido Arg506 ha sido sustituido por una Gln y, por ello, la molécula es más resistente a la degradación por la PCA. El factor VIIIa también es un sustrato para la PCA, pero debido a la inestabilidad del factor VIIIa no parece ser muy relevante desde el punto de vista fisiológico. La PS y el propio factor V actúan de forma sinérgica como cofactores en la degradación del factor Va.

Después de su activación, la PCA es lentamente neutralizada por al menos tres inhibidores de proteinasas: el inhibidor de la PCA (PCI), la α_2-macroglobulina (α_2M) y la α_1-antitripsina (α_1AT).

Sistema fibrinolítico

Introducción

El sistema fibrinolítico tiene como objetivo la lisis de la fibrina depositada en el árbol vascular. Es decir, es un sistema reactivo a la activación de la coagulación y a la generación final de trombina. La plasmina, una serín-proteasa de 85 kDa, es la enzima central de este sistema. En condiciones normales, circula por el plasma humano en forma de proenzima: el

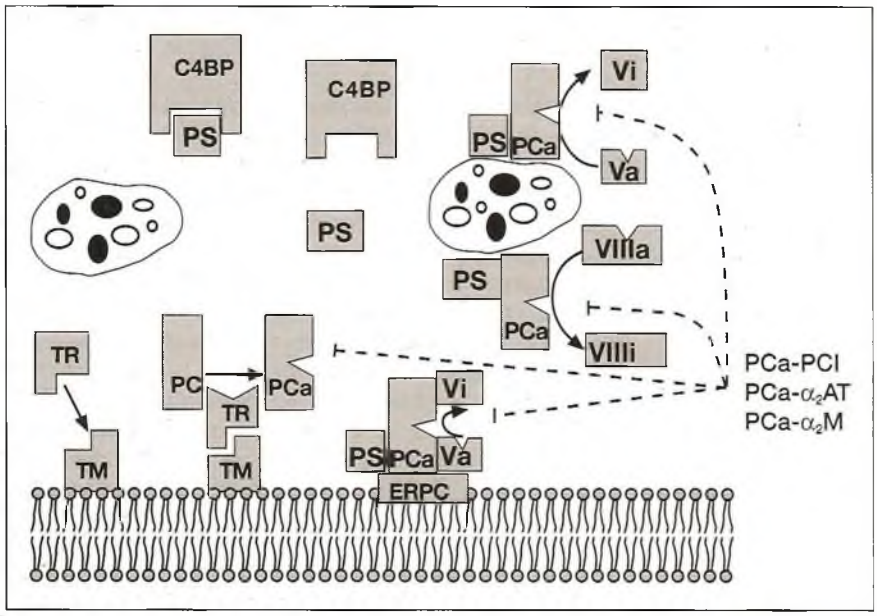


Figura 33.10. Vía de la proteína C. La trombina (TR), tras unirse a la trombomodulina (TM) en la superficie de las células endoteliales, activa la proteína C (PC). La PC activada (PCa), en la superficie del endotelio (mediante la unión al receptor de la proteína C activa, ERPC) y de las plaquetas, se une con la proteína S (PS) libre (no unida al C4bBP), y degrada los factores Va y VIIIa produciendo factores inactivos Vi y VIIIi. En líneas discontinuas aparecen las reacciones de inhibición de la PCa, y los principales inhibidores: el inhibidor de la PCa (PCI), la (α_2AT) y la α_2-macroglobulina (α_2M).

plasminógeno. La transformación del plasminógeno en plasmina la llevan a cabo los denominados activadores del plasminógeno: el activador tisular del plasminógeno (t-PA) y el activador tipo uroquinasa (u-PA). La plasmina es una enzima extraordinariamente inespecífica capaz de degradar a la fibrina, al fibrinógeno, a los factores de la coagulación V y VIII y a otros muchos sustratos. Para regular esta actividad proteolítica de la plasmina, el plasma humano posee un inhibidor muy selectivo y potente, llamado α_2-antiplasmina. Los activadores del plasminógeno también están regulados por los inhibidores de los activadores del plasminógeno tipo I (PAI-1), tipo II (PAI-2) y tipo III (PAI-3).

Los activadores fisiológicos del plasminógeno t-PA y u-PA están siendo utilizados en la actualidad como agentes trombolíticos en el tratamiento del infarto agudo de miocardio, el embolismo pulmonar, trombosis arteriales periféricas, etc. Asimismo, la estreptocinasa (SK) y la uroquinasa, la primera purificada del cultivo de estreptococos y la segunda purificada de la orina humana, también son agentes trombolíticos que, en la actualidad, todavía se utilizan en un amplio espectro de indicaciones.

Componentes del sistema fibrinolítico

Todas las enzimas que constituyen el sistema fibrinolítico están compuestas por dos cadenas unidas por uno o varios puentes disulfuro. En la región aminoterminal de dichas enzimas se halla la zona que les confiere especificidad por los distintos sustratos. En esta zona se encuentran unas estructuras en forma de bucle denominadas *kringles*, compuestas por unos 80 aminoácidos unidos entre sí por tres puentes disulfuro. La cantidad de *kringles* varía para cada componente del sistema fibrinolítico y, en general, dichas estructuras tienen una alta afinidad para los aminoácidos lisina. También se encuentran, en esta zona aminoterminal, las regiones homólogas al factor de crecimiento epidérmico (EGF), y el centro activo compuesto sistemáticamente por los aminoácidos ácido aspártico, histidina y serina. En la tabla 33.3 se detallan los distintos componentes del sistema fibrinolítico, su peso molecular y su concentración plasmática.

TABLA 33.3

Características principales de los componentes del sistema fibrinolítico

Componentes	Peso molecular (kDa)	Número de cadenas	Concentración plasmática
Plasminógeno	92	1	2 µM
t-PA	68	1	70 pM
u-PA	54	1	150 pM
Precalicreína	88	1	450 nM
Factor XII	80	1	375 nM
α_2-antiplasmina	70	1	1 µM
α_2-macroglobulina	725	4	3 µM
PAI-1	52	1	1 nM
PAI-2	46	2	< 100 pM
C1-inhibidor	105	1	1,7 µM
HRG	75	2	1,5 µM

Plasminógeno

El plasminógeno es una glucoproteína de una sola cadena, con un peso molecular próximo a los 90 kDa; contiene aproximadamente un 2% de hidratos de carbono, y el gen que codifica para esta proteína se ha localizado en el cromosoma 6. La molécula de plasminógeno posee 791 aminoácidos, 24 puentes disulfuro y 5 estructuras homólogas, denominadas *kringles*, que le confieren una gran afinidad por la fibrina, la α_2-antiplasmina y la trombospondina. El plasminógeno nativo tiene un ácido glutámico en su extremo aminoterminal (glu-plasminógeno), pero es fácilmente convertido por una proteólisis limitada a las formas aminoterminales que contienen lisina, valina o metionina, que son comúnmente designadas como lys-plasminógeno. Esta conversión se realiza por hidrólisis de los enlaces peptídicos Arg67-Met68, Lys76-Lys77 o Lys77-Val78. Tanto el glu-plasminógeno como el lys-plasminógeno son proenzimas inactivas. La activación del

lys-plasminógeno a plasmina se realiza por la rotura de un simple enlace peptídico entre los aminoácidos Arg560-Val561. La molécula de plasmina está compuesta por dos cadenas: cadena A o cadena pesada, originada por el fragmento correspondiente al NH2-terminal del plasminógeno, y cadena B o cadena ligera, que contiene la parte COOH-terminal y el centro activo de la molécula. La plasmina formada puede degradar de una forma ordenada y secuencial tanto a la fibrina como al fibrinógeno, produciendo fragmentos conocidos como productos de degradación de la fibrina o fibrinógeno[30]. La vida media del plasminógeno ha sido estudiada en personas sanas, y es de 2,2 ± 0,29 días para el glu-plasminógeno y de 0,8 días para el lys-plasminógeno. Las hipoplasminogenemias congénitas y algunos tipos de displasminogenemias se han asociado con problemas trombóticos de repetición en algunas familias muy concretas. Sin embargo, dichas alteraciones no se consideran una causa muy prevalente de trombofilia hereditaria.

- ***Activador tisular del plasminógeno (t-PA)***

Los activadores del plasminógeno, tanto de origen tisular (t-PA) como de origen urinario (u-PA), fundamentalmente regulan la fibrinólisis intravascular y la proteólisis extracelular. La fibrinólisis intravascular, básicamente llevada a término por el t-PA, ha adquirido últimamente una gran relevancia, desde el punto de vista farmacológico y terapéutico. La actividad fibrinolítica extravascular, representada con mayor intensidad por los activadores tipo u-PA, representa un papel importante en la capacidad invasiva de determinados tipos de neoplasias y, en condiciones fisiológicas, es básica para la normal embriogénesis y la reparación e involución de los tejidos. El t-PA es una serín-proteasa compuesta por 527 aminoácidos y de un peso molecular próximo a 88 kDa. El gen humano que codifica para el t-PA tiene más de 20 kb, con 14 exones, y se halla situado en el cromosoma 8. El t-PA es sintetizado y secretado por las células endoteliales vasculares en forma de glucoproteína de una sola cadena (sct-PA) y con un contenido de hidratos de carbono próximo al 12,8%. En presencia de pequeñas cantidades de plasmina, la forma monocatenaria del t-PA puede convertirse en forma bicatenaria; esta última forma de t-PA parece que posee mayor afinidad por la fibrina. En la cadena pesada del t-PA se halla la zona de la molécula que le confiere una gran afinidad por la fibrina. La concentración plasmática de t-PA es muy baja, aproximadamente del orden de 5 ng/mL. La mayoría del t-PA circulante se halla formando un complejo con el inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1), y menos del 5% se halla en forma libre. No obstante, en determinadas situaciones, cuando se genera fibrina dentro del árbol vascular, la concentración de t-PA es extremadamente alta en el punto en el que se ha producido la trombosis, y en esa zona se produce la activación del plasminógeno en plasmina. En ausencia de fibrina, la eficiencia del t-PA para activar el gluplasminógeno circulante es muy baja. Sin embargo, en presencia de fibrina el t-PA tiene una afinidad 500 veces superior por el plasminógeno fijado a la fibrina. También se sabe que la forma parcialmente degradada del plasminógeno (lys-plasminógeno) es transformada en plasmina por el t-PA diez veces más rápidamente que la forma nativa del plasminógeno (gluplasminógeno). *In vivo*, el t-PA tiene una vida media muy corta, aproximadamente, de unos 5 minutos, y su rápida desaparición de la circulación parece ser independiente de la formación de complejos con el PAI-1.

Activador del plasminógeno tipo uroquinasa (u-PA, o UK)

Los u-PA se han encontrado en la orina, en diversos cultivos celulares (células endoteliales) y también en el plasma. La uroquinasa de alto peso molecular (HMW-UK), de 55 kDa y de dos cadenas, es el más conocido, en cuanto a su estructura primaria. La HMW-UK, por efecto de la plasmina, se convierte en UK de bajo peso molecular (LMW-UK), de 33 kDa. La HMW-UK se sintetiza en una forma inactiva y de una sola cadena, denominada pro-UK o scu-PA (*single chain* u-PA). La concentración de scu-PA en plasma no está bien establecida, pero puede variar entre 2-20 ng/mL. También se conoce que el gen de la scu-PA tiene 6,4 kb y se halla situado en el cromosoma 10. La plasmina y la calicreína rompen el scu-PA a nivel del aminoácido 158, y la transforman en una molécula de dos cadenas (tcu-PA) con una alta afinidad por el plasminógeno fijado en la fibrina. Al igual que el t-PA, los activadores tipo uroquinasa (de dos cadenas) transforman el plasminógeno en plasmina solamente en las zonas del árbol vascular donde existe presencia de fibrina. La vida media de la scu-PA nativa o recombinante es muy baja, del orden de 5-8 minutos, muy similar a la del t-PA.

Inhibidores de los activadores del plasminógeno

Se han caracterizado distintos inhibidores de la activación del plasminógeno, y el más importante de ellos es el denominado PAI-1 (inhibidor de la activación del plasminógeno tipo I). El PAI-1 es una glucoproteína, de 52 kDa aproximadamente, compuesta por 379-381 aminoácidos, y el gen que sintetiza para dicha proteína se halla situado en el cromosoma 7. El PAI-1 se halla en el plasma a una concentración baja, 1.000 veces inferior a la de la α_2-antiplasmina, pero 3-4 veces superior a la concentración de t-PA. El PAI-1 es un inhibidor de serín-proteasas y, como tal, tiene la estructura típica de serina-arginina-aspártico en el centro reactivo. El PAI-1 inhibe adecuadamente y con una cinética similar al sct-PA, tct-PA y tcu-PA, pero no a la scu-PA ni a la SK. La reacción entre PAI-1 y estos activadores del plasminógeno se produce en dos tiempos; en un primer estadio, la reacción es reversible, y en un segundo, se forman uniones de tipo covalente y la reacción es irreversible.

En el ámbito plasmático, probablemente, sólo se halla un tercio del PAI-1 existente, pues una gran cantidad se encuentra en las plaquetas, almacenado en los gránulos α, y su liberación se realiza cuando se produce una activación de las plaquetas. El resto del PAI-1 se encuentra en la célula endotelial vascular y en el hepatocito. El PAI-1 puede liberarse desde las células endoteliales mediante diferentes estímulos: la trombina, las endotoxinas bacterianas, las citocinas proinflamatorias, etc.

Los otros inhibidores de la activación del plasminógeno, el PAI-2, PAI-3 y la proteasa-nexina son inhibidores de menor importancia. Cabe destacar que el PAI-2 se encuentra de forma abundante en el plasma de mujeres embarazadas y es, fundamentalmente, de origen placentario. El PAI-3 se ha detectado en orina y plasma, y en la actualidad se sabe que es un inhibidor importante de la proteína C activada. La proteasa-nexina se sintetiza en los fibroblastos, en las células musculares cardíacas y en las células epiteliales del riñón. En plasma no se ha podido detectar; sin embargo, se cree que su función tiene importancia en la matriz extracelular.

Inhibidores de la plasmina

Como ya se ha mencionado anteriormente, la α_2-antiplasmina es el principal inhibidor fisiológico de la plasmina. Es una

glucoproteína de cadena simple, con un peso molecular aproximado de 70 kDa y que posee, aproximadamente, el 13% de hidratos de carbono. En esta molécula, cabe distinguir funcionalmente dos regiones, una, con residuos de lisina, capaz de unirse al plasminógeno o a la plasmina, y otra, en la que se localiza el centro inhibidor propiamente dicho, que se une al centro activo de la plasmina.

La α_2-antiplasmina forma un complejo estequiométrico (1:1) con la plasmina, muy estable, el cual está desprovisto de actividad proteásica o esterásica. El complejo se produce por una fuerte interacción entre la cadena ligera de la plasmina y el inhibidor. La acción de la α_2-antiplasmina sobre proteasas distintas a la plasmina parece ser muy escasa.

La vida media de la α_2-antiplasmina marcada isotópicamente con ^{125}I ha sido estudiada en personas sanas y en pacientes sometidos a tratamiento trombolítico. En el grupo control, la vida media hallada fue de 2,64 ± 0,32 días, mientras que en los pacientes bajo tratamiento, la vida media resultaba de aproximadamente 0,5 días, debido a la formación de complejos plasmina-α_2-antiplasmina. Este complejo posee una vida media mucho más larga. La concentración de α_2-antiplasmina en la sangre de individuos sanos es, aproximadamente, de 1 µM, pero puede decrecer por debajo del 30% en casos graves de enfermedad hepática o coagulación intravascular diseminada. En cambio, es normal en pacientes con enfermedades cardiovasculares, renales o malignas. La α_2-antiplasmina es agotada temporalmente durante el tratamiento trombolítico con estreptocinasa.

La α_2-macroglobulina es un inhibidor más lento que la plasmina y que la α_2-antiplasmina, y parece tener como misión neutralizar a la plasmina formada en exceso, cuando se ha sobrepasado la capacidad inhibitoria de la α_2-antiplasmina. Así pues, cuando es activado el plasminógeno plasmático (concentración entre 1,5 y 2 µM), la plasmina formada sería neutralizada inicialmente por la α_2-antiplasmina (concentración aproximada de 1 µM), hasta su saturación, a partir de este momento, el exceso de plasmina sería neutralizado por la α_2-macroglobulina[31]. A pesar de que, en teoría, la presencia de α_2-macroglobulina podría suplir un déficit de α_2-antiplasmina, la velocidad de inactivación a través de la α_2-macroglobulina es tan lenta, que los pacientes con un déficit congénito de α_2-antiplasmina, presentan un cuadro hemorrágico importante.

Conexión del sistema de la coagulación y el sistema fibrinolítico. TAFI (thrombin activable fibrinolysis inhibitor) *o procarboxipeptidasa-B plasmática*

La trombina generada en la activación de la coagulación no solamente es responsable de la formación de fibrina sino que también es capaz de protegerla de su lisis mediante la activación del TAFI. El TAFI o procarboxipeptidasa-B plasmática es una molécula de una sola cadena de 60 kDa de peso molecular. Es una proteína inactiva que, para poder activarse, precisa trombina o la presencia del complejo trombina-trombomodulina. El TAFI activo inhibe la fibrinólisis mediante una proteólisis de residuos lisina y arginina de la región carboxiterminal de la fibrina durante el proceso de lisis; concretamente, precisa que la plasmina haya iniciado el proceso de lisis de la fibrina. Como es sabido, estos residuos son esenciales para la unión y activación del plasminógeno en la superficie de la fibrina. Asimismo, el TAFI activo impide la activación del gluplasminógeno por el t-PA, en presencia de fibrina parcialmente degradada, pero no en presencia de fibrina intacta. El TAFI activo también inhibe la transformación de gluplasminógeno en lys-plasminógeno mediada por la fibrina y la plasmina. El TAFI activo en concentraciones relativamente altas (25-50 nM) inhibe directamente la plasmina. Su concentración plasmática se estima en 75 nM. La activación del TAFI se produce de una forma similar a la activación de la proteína C por la trombomodulina, y en dicha activación están implicados los dominios EGF del 1 al 6 de la trombomodulina. Los anticuerpos anti-EGF5 impiden tanto la activación del TAFI como de la proteína C[32]. En la figura 33.11 se esquematiza el proceso de activación del TAFI. No se

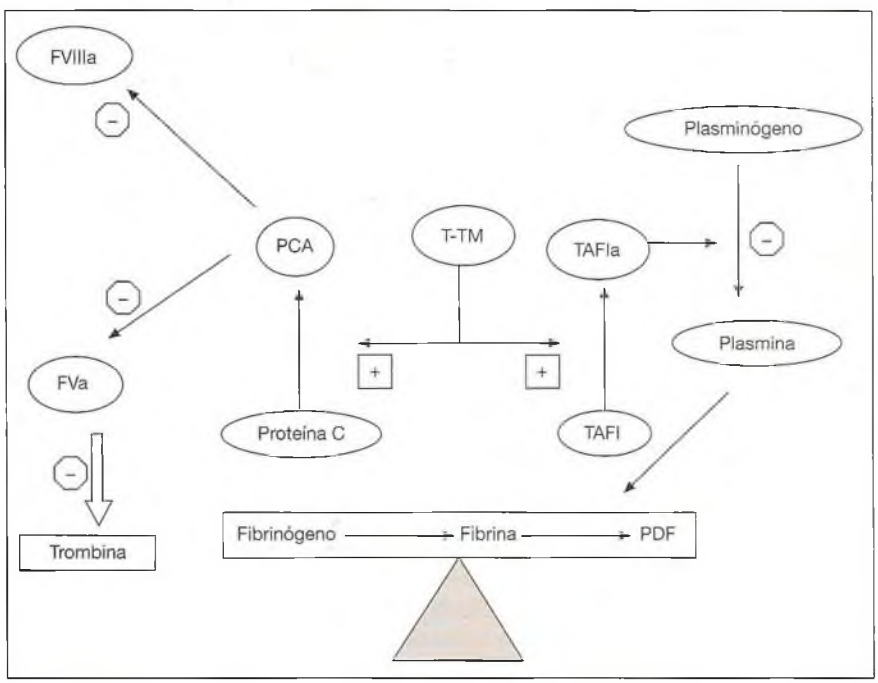


Figura 33.11. Representación esquemática de la interacción entre el sistema de la coagulación y la fibrinólisis.

conoce con exactitud cómo se inhibe el TAFI activo, pero diversos experimentos *in vitro* sugieren que la plasmina y la trombina en concentraciones relativamente altas podrían inhibirlo mediante una proteólisis parcial de la molécula de TAFIa. También se ha descrito un potente inhibidor del TAFI activo procedente de la patata (PCI). En modelos animales en los que se ha inducido una trombosis arterial, se ha demostrado que la infusión de este inhibidor, junto con el t-PA, incrementa muy considerablemente el efecto trombolítico del t-PA. El TAFI, al inhibir la fibrinólisis, actúa como un procoagulante, de forma que su defecto podría llevar a un estado permanente de fibrinólisis con el consiguiente riesgo de sangrado, y por el contrario, su exceso podría causar procesos trombóticos. Existen muy pocos estudios en los que se haya estudiado el papel de TAFI; sin embargo, se ha estudiado en pacientes con leucemia aguda promielocítica, encontrándose una disminución de su actividad, cercana al 60%, con niveles normales de TAFI antigénico. En esta entidad se sospecha que esta disminución de la actividad del TAFI se debe a la acción de la plasmina, ya que en estos pacientes se detecta habitualmente una hiperfibrinólisis. También se ha estudiado el TAFI en la angina inestable, encontrándose unos niveles elevados que podrían contribuir a la oclusión de los vasos coronarios. Este incremento se cree que es debido a un estado inflamatorio crónico detectado en los pacientes con *angor* inestable. En pacientes con insuficiencia renal crónica, el TAFI, tanto funcional como antigénicamente, es absolutamente normal y no presenta correlación con los incrementos de complejos plasmina-α_2-antiplasmina (PAP), con los complejos trombina-antitrombina (TAT) ni con la gravedad de la insuficiencia renal.

Activación y regulación de la fibrinólisis fisiológica

En condiciones de normalidad, sólo el 20% del plasminógeno circula libre en el plasma. El 50% del plasminógeno forma un complejo disociable con la HRG (glucoproteína rica en histidina), y alrededor del 15% forma complejos disociables con la α_2-antiplasmina. El resto, aproximadamente un 15%, circula unido al fibrinógeno. Este equilibrio se mantiene con concentraciones plasmáticas del plasminógeno, y de los otros componentes citados, dentro del rango de la normalidad. Así pues, al formarse fibrina dentro del árbol vascular, ésta contiene plasminógeno, que se halla unido a la fibrina por una o más regiones denominadas *lysine-binding-sites* (LBS), que poseen una elevada afinidad por los residuos lisina.

Por estímulos todavía mal definidos (hipoxia local, estrés, ejercicio físico, desmopresina, etc.), las células endoteliales circundantes al coágulo o trombo liberan activadores del plasminógeno tipo t-PA, u-PA. Dichos activadores, sobre todo el t-PA, tienen una gran afinidad por la fibrina (unas 100 veces superior a la del fibrinógeno) y prácticamente no interaccionan con el plasminógeno circulante sino sólo con el que se halla unido a la fibrina por sus LBS. En estas condiciones, estos activadores transforman el plasminógeno en plasmina en la superficie del trombo. Dicha plasmina no es inhibida por la α_2-antiplasmina, inhibidor específico de la misma, por poseer sus LBS ocupados por la fibrina. De esta forma, se genera plasmina en el interior del trombo y éste es degradado. Cuando se produce este hecho y la plasmina se libera de la fibrina, inmediatamente es inhibida en el medio plasmático por la α_2-antiplasmina.

Esta activación de la fibrinólisis, localizada en el punto en el que se halla la fibrina, está sujeta al influjo de diversos moduladores. El PAI-1 liberado durante la activación de las plaquetas o secretado por las propias células endoteliales probablemente contribuye a la estabilización del trombo a través de la inactivación del t-PA libre[33]. En la figura 33.12 se esquematizan de forma global los procesos de activación e inhibición del sistema fibrinolítico.

EXPLORACIÓN DE LA HEMOSTASIA

A medida que se han ido conociendo los mecanismos fisiológicos de la hemostasia, se han desarrollado pruebas de laboratorio para evaluar estos procesos y dosificar las proteínas que intervienen en ellas. En general, pueden distinguirse dos tipos de estudios: los encaminados a estudiar la tendencia hemorrágica y los orientados al estudio de la tendencia trombótica. El otro aspecto importante es la evaluación de la hemostasia primaria. Ante cualquier tipo de alteración plaquetaria es obligado realizar un recuento plaquetario, un examen morfológico de las plaquetas por métodos convencionales y, si el cuadro clínico sugiere una alteración funcional, también es necesario realizar pruebas dedicadas específicamente a profundizar en el estudio funcional bioquímico y dinámico de las plaquetas.

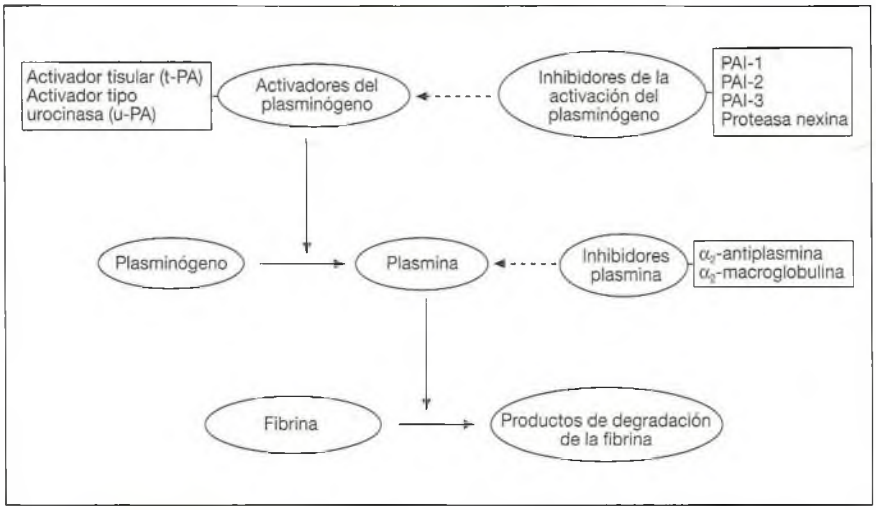


Figura 33.12. Esquema de la activación y regulación del sistema fibrinolítico.

Exploración de la hemostasia primaria

Tiempo de sangría[9]

El tiempo de sangría se define como el período de tiempo que transcurre entre la realización de una pequeña incisión en un área determinada de la piel y el momento en que finaliza el sangrado de la zona. Es la única prueba global que permite medir *in vivo* la reacción plaqueta-endotelio, y refleja la capacidad hemostática de las plaquetas. La interpretación de los resultados da una idea de la hemostasia primaria y de la integridad de todos los parámetros relacionados, como la calidad de la pared vascular, el número de plaquetas y la adhesión y agregación de las mismas al endotelio dañado. La técnica de Duke, por punción del lóbulo de la oreja con una lanceta, fue la primera utilizada, pero por su falta de reproducibilidad, fue sustituida por el método de Ivy, que consiste en practicar una incisión de 1 cm de longitud y 1 mm de profundidad en la cara anterior del antebrazo, mediante una cuchilla especial para esta prueba. Para realizarla, hay que asegurarse de que el paciente no haya ingerido fármacos con capacidad de alterar la función de las plaquetas, especialmente aspirina, ticlopidina o clopidogrel, al menos 10 días antes de la prueba. El tiempo de sangría, en condiciones estandarizadas, es de entre 3 minutos 30 segundos, y 8 minutos y 30 segundos. Las causas de prolongación del tiempo de sangría incluyen algunas alteraciones de la pared vascular, trombocitopenias con recuentos inferiores a 50×10^9/L, defectos en la adhesión de las plaquetas al subendotelio (déficit de glucoproteínas, enfermedad de Von Willebrand), defectos de la secreción plaquetaria, alteraciones de la agregación plaquetaria, trombocitopatías adquiridas (hepatopatía, enfermedades renales), fármacos que alteren la función plaquetaria, algunos déficit de factores de la coagulación (factor V, XI), y causas desconocidas en pacientes sin anormalidades de la coagulación. El tiempo de sangría, que durante años ha sido la primera evaluación en la función plaquetaria, está siendo sustituido por una prueba denominada PFA-100 (*platelet function analyzer*).

Función plaquetaria

PFA-100 *(platelet function analyzer)*

La evaluación de la función plaquetaria con este aparato se realiza de manera automática en sangre total citratada. El instrumento produce un flujo constante de sangre que simula en cierto modo el flujo capilar, y hace que esta sangre atraviese una membrana porosa que contiene colágeno, colágeno y epinefrina o colágeno y ADP. Cuando las plaquetas entran en contacto con estos inductores, se activan y se adhieren y agregan sobre la membrana, ocluyéndola. El aparato registra el tiempo de obturación. En pacientes sin trombocitopenia, el tiempo de obturación se prolonga en trombocitopatías, en la enfermedad de Von Willebrand, en pacientes que toman fármacos que afectan a la función plaquetaria, como la aspirina y otros. Las ventajas sobre el tiempo de Ivy son que no se precisa una incisión de la piel, es mucho más corto (el tiempo de Ivy puede ser de más de 20 minutos), la precisión no depende del observador, es mucho más cómodo para el paciente, y es más fiable, dado que no depende de problemas cutáneos o del posible corte de un vaso sanguíneo. Debido a esto, el tiempo de sangría está cayendo en desuso.

Agregometría[9,11]

La agregometría se utiliza para estudiar la función plaquetaria en condiciones normales y patológicas, para conocer la acción de determinados fármacos, y como evaluación básica en pacientes en los que el tiempo de oclusión en PFA-100 está alterado. El método utilizado es el procedimiento turbidimétrico de Born, que consiste en medir la diferencia de densidad óptica (transmitancia) que existe entre un plasma rico en plaquetas (PRP) y un plasma pobre en plaquetas (PPP). Al añadir los agentes agonistas o inductores, las plaquetas se agregan entre sí, lo que se traduce en un aumento de la luz transmitida a través de la cubeta del agregómetro, que es registrada en forma de gráfico. Los resultados se expresan como el porcentaje de agregación a los 5-10 minutos. En una evaluación general se mide la agregación plaquetaria frente a un panel de agentes agregantes, como ADP, colágeno, ristocetina, adrenalina, AA, trombina, endoperóxidos cíclicos y un ionóforo de Ca^{++}. La respuesta de las plaquetas a los diferentes agonistas puede dividirse en cuatro fases sucesivas: el cambio de forma, la agregación, la movilización y la oxidación del AA, y la liberación del contenido de los gránulos. Por tanto, la agregometría permite estudiar un posible fallo en el funcionalismo plaquetario *in vitro*, que orienta hacia la presencia de una posible patología.

Estudio de las glucoproteínas de membrana[8]

Para el estudio de las glucoproteínas de membrana se han desarrollado diversas técnicas, que pueden agruparse en tres tipos de pruebas:

1. *Técnicas electroforéticas de distintos tipos, en geles de policrilamida.* La técnica más utilizada para analizar mezclas proteicas es la SDS-electroforesis en geles de poliacrilamida en una dimensión (SDS-PAGE). Consiste en hacer reaccionar las proteínas con un detergente aniónico, el dodecilsulfato sódico (SDS), para formar complejos cargados negativamente. Las proteínas, generalmente, son desnaturalizadas y solubilizadas al unirse al SDS, y los complejos formados pueden ser separados en función de su masa y carga. Este método proporciona una alta resolución y reproducibilidad, pero a pesar de poder detectar y caracterizar la glucoproteína, no permite detectar las propiedades antigénicas de las proteínas y su interacción con otras proteínas, que pueden ser importantes en el estudio del funcionalismo plaquetario.
2. *Técnicas inmunológicas.* El método más utilizado es la citometría de flujo. Las plaquetas se incuban previamente con anticuerpos específicos marcados con sustancias fluorescentes, para cada una de las glucoproteínas. Este sistema permite medir la intensidad de la fluorescencia incorporada a diferentes subgrupos dentro de la población de plaquetas analizada, y estudiar las plaquetas en reposo o activadas. Además, es capaz de detectar cambios conformacionales en las glucoproteínas de la subpoblación de plaquetas, lo que permite estudiar el funcionalismo plaquetario, ya que así se pueden estudiar diversos estadios del desarrollo de la actividad procoagulante de las plaquetas, y la detección de la activación plaquetaria, como el cambio conformacional del complejo IIb-IIIa y la expresión de proteínas como la P-selectina.
3. *Otros métodos* son el marcaje radioisótopico, técnicas de ELISA y método de *Western-blotting*.

Exploración de la cinética plaquetaria[34]

Los estudios de la cinética de las plaquetas que han sido marcadas con radionúclidos permiten la cuantificación de parámetros como la supervivencia plaquetaria y la tasa de renovación plaquetaria. Además, ofrecen información sobre los lugares de destrucción periférica (habitualmente, el bazo) y, por tanto, indican el órgano más implicado en dicha destrucción y la posible utilidad de una esplenectomía. Los puntos básicos de un estudio cinético plaquetario son el marcaje de las plaquetas mediante ^{111}In-oxina, la medida de la radiactividad ligada a las plaquetas circulantes, el cálculo de los parámetros derivados de su análisis y, posteriormente, la detección externa de la radiactividad, para la localización de los lugares de destrucción.

Exploración de la adhesividad[9]

La adhesión primaria de las plaquetas desempeña un papel importante en los primeros eventos que tienen lugar al desencadenarse el mecanismo de la hemostasia. Existen diferentes métodos que permiten cuantificar la adhesividad plaquetaria. Entre ellos, destacan la adhesividad de las plaquetas al cristal y la adhesividad de las plaquetas al subendotelio (técnica de perfusión de Baumgartner). Los métodos que estudian la adhesividad plaquetaria al vidrio se basan en la propiedad de las plaquetas de adherirse a superficies de materiales, y valoran la capacidad de retención de las plaquetas por microesferas calibradas de cristal, que en un individuo normal, sería del 50%. El problema está en que, al no obtener resultados reproducibles en diferentes laboratorios, es una técnica en desuso. La técnica de Baumgartner permite el estudio de la interacción de las plaquetas con el subendotelio en condiciones de flujo definidas. Se basa en un sistema de perfusión que consiste en hacer circular la sangre, anticoagulada o no, por una cámara anular de plástico cuyos diámetros son constantes, lo que permite emular parámetros reológicos, como el flujo y el coeficiente de cizallamiento. Una vez transcurrido el tiempo de perfusión, las plaquetas que han interaccionado con el segmento vascular perfundido pueden cuantificarse por métodos isotópicos o por métodos morfométricos. Su utilidad estriba en la posibilidad de profundizar en el conocimiento de los mecanismos reguladores de la interacción plaqueta-subendotelio, el papel del coeficiente de cizallamiento en la deposición de plaquetas en los vasos dañados, la importancia de otras células, como los eritrocitos, en los parámetros reológicos (flujo y coeficiente de cizallamiento), y también han permitido un mejor conocimiento del papel de diferentes proteínas adhesivas del plasma y las glucoproteínas de membrana en los procesos de adhesión y agregación plaquetarias. Otra utilidad de estos métodos ha sido la comprensión de las alteraciones fisiopatológicas en trastornos hemorrágicos congénitos, como la unión del FVW al subendotelio y a la GPIb, primordial para el anclaje de las plaquetas, y la extensión de las plaquetas sobre el subendotelio para la posterior formación de agregados por mediación de la GPIIb-IIIa.

Nuevas técnicas en la actualidad para el conocimiento de la función celular global de las plaquetas. Metodología transcriptómica y metodología proteómica[35,36]

Ambas metodologías aportan nuevos conocimientos que descubrirán nuevas claves en el importante papel de las plaquetas en diferentes procesos como la inflamación y la trombosis. A pesar de que las plaquetas son células sin núcleo y que se creía que no tenían capacidad transcripcional, se sabe en la actualidad que existen varios mRNA plaquetarios. Existen dos técnicas principalmente, la de análisis de *microarrays* y la SAGE (análisis seriado de expresión génica). Se han encontrado transcriptos tanto mitocondriales como no mitocondriales (como el factor 4 plaquetario, ferritina y otros). Las técnicas proteómicas también serán interesantes para conocer el contenido proteico de las plaquetas y su importancia en las alteraciones de la función plaquetaria o la respuesta a fármacos antitrombóticos.

Métodos de estudio de la coagulación y fibrinólisis

Condiciones preanalíticas[37]

La manera de recoger la sangre es de gran importancia para el estudio de la hemostasia. La punción tiene que ser correcta para evitar la liberación de tromboplastina, y la sangre tiene que mezclarse inmediatamente con citrato sódico, que, al quelar el calcio, evita que se coagule. En general, para el estudio plasmático la sangre se recoge en tubos de plástico o cristal siliconado, que contienen citrato sódico 130 (o 105) mM en un volumen de una parte de citrato por 9 partes de sangre. La concentración final de citrato es de 13 mM (o 10,5 mM). Posteriormente, la sangre se centrifuga a 3.000 g, 20 minutos para separar las células del plasma, y debe utilizarse el mismo día (necesario, para algunas mediciones) o guardarse congelada a –20 °C hasta su uso.

Para la obtención de DNA, la sangre puede recogerse en citrato 13 mM o, preferiblemente, en EDTA. Una vez centrifugado y separado el plasma, se recoge el paquete celular, se lisan los hematíes y se lavan los leucocitos. Se extrae el DNA mediante lisis de los leucocitos y precipitación con sales y etanol.

Los datos del enfermo son importantes para evaluar los resultados. Es importante conocer la edad y sexo del paciente ya que influyen en el nivel de algunas proteínas, así como si toma alguna medicación anticoagulante o antiagregante. También es muy útil saber si el paciente sufre una hepatopatía, ya que estos enfermos muestran alteraciones prácticamente generales en la hemostasia.

Pruebas de hemostasia para el estudio de diátesis hemorrágica[38]

La exploración biológica de la hemostasia se inicia por unas pruebas globales básicas, sensibles a un conjunto de factores. Si estas pruebas resultan alteradas, seguidamente se estudian de forma individual los factores que intervienen en cada una de ellas.

Tiempo de tromboplastina parcial activado o tiempo de cefalina

Es el tiempo de coagulación que se obtiene al añadir a un plasma una sustancia cargada negativamente (sílice, caolín o ácido elágico) que activa la fase de contacto, cefalina que aporta fosfolípidos y $CaCl_2$ (fig. 33.4). Esta prueba es sensible a las deficiencias de los factores VIII, IX, X, XI, XII, precalicreína y quininógeno de alto peso molecular. Se alarga también por la presencia de heparina y por la presencia de anticoagulantes de tipo lupus.

Tiempo de protrombina

Es el tiempo que se obtiene al añadir al plasma tromboplastina, un reactivo que aporta factor tisular y fosfolípidos, y calcio. Esta prueba evalúa la vía extrínseca de la coagulación (fig. 33.4) y es sensible a los factores II, V, VII y X. Se alarga en las hepatopatías, y es la prueba que se utiliza para el control de los niveles de anticoagulación en enfermos bajo tratamiento con cumarínicos. Para el control de la anticoagulación es necesario que el resultado sea independiente del reactivo y del aparato que se utilice. Para ello, los resultados se expresan en INR (razón internacional normalizada), que es la razón del tiempo de coagulación del paciente respecto al control elevado a un valor llamado ISI (índice de sensibilidad internacional) que es propio de cada tromboplastina. Con esta corrección, el resultado obtenido es el que se obtendría si se utilizara el estándar internacional de tromboplastina.

Tiempo de trombina

Es el tiempo de coagulación obtenido al añadir al plasma una concentración baja de trombina (1uNIH/mL de plasma). Valora la capacidad de polimerizar del fibrinógeno, y es muy sensible a la heparina. La medición se prolonga también por niveles muy bajos de fibrinógeno o niveles altos de productos de degradación del fibrinógeno o de la fibrina.

Tiempo de reptilasa

Es el tiempo de coagulación obtenido al añadir al plasma reptilasa, una enzima proteolítica extraída del veneno de la serpiente *Bothrops atrox*. Esta enzima actúa sobre el fibrinógeno de una forma parecida a la trombina, pero liberando solamente el fibrinopéptido A y formándose el monómero de fibrina. Se alarga en las hepatopatías y las hipo o disfibrinogenemias. Es insensible a la heparina. Es muy útil para descartar la presencia de heparina en el plasma en estudio.

Concentración de fibrinógeno

El método más ampliamente aceptado es el descrito por Von Clauss[39], basado en que cuando un plasma diluido se pone en presencia de un exceso de trombina, el tiempo de coagulación del plasma está en relación lineal con la concentración del fibrinógeno. Se realiza una curva de calibración con un plasma que contiene una cantidad conocida de fibrinógeno, y sobre ésta con el tiempo de coagulación del plasma problema, se extrapola la concentración del fibrinógeno. Una variación de este método es el fibrinógeno derivado, que consiste en medir la absorbancia máxima del coágulo obtenido en la dosificación del tiempo de protrombina. Este sistema correlaciona bien con el método anterior si los niveles de fibrinógeno son normales, pero hay diferencias si los niveles son muy altos o muy bajos. El método del fibrinógeno debe utilizarse en pacientes tratados con fibrinolíticos o en pacientes con CID.

Dosificación de la actividad de los factores II, V, VII y X

Consiste en medir el tiempo de coagulación en un sistema en el que todos los factores están presentes en exceso, excepto el que se quiere dosificar que sólo lo aporta el plasma del enfermo. Para ello, se utiliza como reactivo un plasma que contiene todos los factores de la coagulación excepto el que se va a dosificar (plasma deficiente en factor II, en factor VII, etc.). Se mezcla el plasma diluido del enfermo con el plasma deficiente y se inicia la coagulación al añadir tromboplastina y calcio. El tiempo de coagulación es proporcional a la concentración del factor. Para cuantificarlo se prepara una curva con diferentes concentraciones de un plasma calibrador, y cada concentración se trata igual que si fuera un paciente. Con los tiempos de coagulación de cada concentración se dibuja la curva de calibración, y con el tiempo de coagulación del paciente, se calcula su concentración.

Dosificación de los factores VIII, IX, XI y XII

El principio es el mismo que en el caso anterior, pero se mide el tiempo de coagulación iniciada por la fase del contacto, en presencia de cefalina, que aporta fosfolípidos, de un activador del contacto, y de calcio.

Factor Von Willebrand (FVW), actividad cofactor de la ristocetina[40]

Es una técnica de aglutinación. El reactivo contiene plaquetas humanas estabilizadas, ristocetina y EDTA. La ristocetina parece inducir o mimetizar el cambio que se produce en el factor Von Willebrand cuando se ha unido al colágeno. El resultado es que induce la agregación plaquetaria mediante el FVW. La dosificación antigénica del factor Von Willebrand se realiza mediante una técnica de ELISA, electroinmunoensayo, RIA, etc.

Dosificación del factor XIII[41]

Se basa en activarlo con trombina y valorar la actividad transglutaminasa sobre un sustrato, liberando NH_3, que se cuantifica mediante una reacción paralela que mide el decrecimiento del NADH. También suele medirse mediante una técnica basada en un sustrato cromogénico.

Detección de inhibidores

El alargamiento de las pruebas básicas de coagulación o la detección de niveles bajos de un factor de coagulación no siempre es debido a una deficiencia en su síntesis, pues puede ser debido a la presencia de un inhibidor. Estos inhibidores pueden ser de dos tipos: un inhibidor de tipo lupus o un anticuerpo dirigido específicamente contra el factor que resulta disminuido.

Detección de anticoagulantes tipo lupus (AL)

Son autoanticuerpos dirigidos contra complejos proteína-fosfolípidos que impiden la correcta unión de los factores de coagulación a las superficies fosfolipídicas. A pesar de que *in vitro* se presentan como alargamiento de las pruebas de coagulación (tiempo de cefalina, o de protrombina), la presencia de estos anticuerpos en el paciente se asocian con tendencia trombótica más que hemorrágica. Hay una gran variedad de técnicas para la detección de los AL, la mayoría de ellas basadas en observar el alargamiento de las pruebas de coagulación de un plasma en presencia de pequeñas cantidades de fosfolípidos o, por el contrario, en ver la normalización de las pruebas de coagulación al incrementar la concentración de fosfolípidos. Los criterios recomendados por la ISTH[42] para el diagnóstico de AL son: *a*) prolongación de al menos una prueba de coagulación que necesite fosfolípidos; *b*) confirmación de que la alteración se debe a un inhibidor y no a un defecto de factores; *c*) evidencia de que la actividad inhibitoria depende de los fosfolípidos, y *d*) evidencia de que el inhibidor no va dirigido contra factores de coagulación. Las pruebas más ampliamente utilizadas son el test

de Exner[43] y el test de Russell[44]. El primero consiste en el tiempo de coagulación de un plasma problema mezclado en diferentes proporciones con un plasma control, mediante caolín y $CaCl_2$. Este test es sensible a la heparina, y también a los inhibidores específicos contra factores de la coagulación, por lo que hay que descartar la presencia de éstos ante un test de Exner positivo. El test de Russell[44] consiste en la coagulación de un plasma en presencia del veneno de la serpiente de Russell, que activa directamente al factor X en presencia de pequeñas cantidades de fosfolípidos. Se recomienda realizar este test en mezclas de partes iguales de plasma del paciente y plasma control, para descartar el déficit de factores. También es sensible a la heparina.

Detección de anticuerpos antifosfolípidos[45]

Los anticuerpos dirigidos contra fosfolípidos cargados negativamente se detectan mediante técnicas de ELISA, utilizando como antígeno la cardiolipina o la fosfatidilserina; los tampones de dilución contienen suero de bovino adulto, que es rico en β_2-glucoproteína I, cuyo complejo con los fosfolípidos es el antígeno al que van dirigidos estos anticuerpos.

Detección de inhibidores contra los factores de la coagulación

El test descrito por Ewing y Kasper[46] es un buen método para detectar los inhibidores contra los factores de la vía intrínseca. Valora el tiempo de cefalina caolín de una mezcla de plasma del paciente, plasma control y cefalina, que se han incubado juntos durante 2 horas a 37 °C. Este tiempo se compara con la misma proporción de plasma del paciente, plasma control y cefalina que se han incubado por separado. Si el plasma del paciente tiene inhibidor contra algún factor de la vía intrínseca, el tiempo del tubo en el que se han incubado juntos los plasmas del paciente y del control será más largo que el del tubo del paciente y control que se han incubado por separado.

Pruebas para valorar la tendencia trombótica[47-50]

La alteración de los mecanismos reguladores de la hemostasia tiene como consecuencia una tendencia trombótica. Entre todos los componentes de la hemostasia, sólo para algunos de ellos se ha podido demostrar de una manera clara su relación con la trombosis, y su detección debe incluirse en un estudio básico de trombofilia: antitrombina, proteína C, proteína S, resistencia a la proteína C activada, anticoagulante tipo lupus, anticuerpos antifosfolípidos, la mutación factor V Leiden y la mutación G20210A del gen de la protrombina. Otras pueden estar también relacionadas con la trombofilia, pero por ser poco frecuente su alteración, suelen incluirse en un segundo nivel de estudio.

Antitrombina

Es el principal inhibidor fisiológico de las serín-proteasas. Su cuantificación funcional se basa en la inhibición de una cantidad fija de trombina o de factor Xa. Se realiza incubando el plasma problema con un exceso de trombina o de factor Xa en presencia de heparina, que acelera la inhibición. A continuación, se añade un sustrato cromogénico con el que se valora la enzima residual, que es inversamente proporcional a la cantidad de antitrombina presente en el plasma. En caso de encontrar niveles bajos por este método, es conveniente realizar la dosificación mediante un método antigénico, que indicará si se trata de un defecto de síntesis o de una proteína disfuncional. Esta determinación antigénica puede realizarse por métodos de inmunodifusión radial, electroinmunoensayo, ELISA, etc. Si se trata de un defecto de síntesis, los niveles detectados por la prueba funcional y por la antigénica serán los mismos: déficit tipo I. En caso de una proteína disfuncional, los niveles de antitrombina por un método antigénico son normales, mientras que la prueba funcional da valores bajos: déficit tipo II. En este caso, es conveniente saber si la anomalía está en la zona de unión a la heparina o en el lugar reactivo. Para estudiar la unión a la heparina se realiza una inmunoelectroforesis cruzada en presencia de heparina. Esta prueba consiste en realizar una electroforesis del plasma en dos direcciones perpendiculares. En la primera, se utiliza un gel de agarosa que contiene heparina, con lo que la antitrombina se une a la heparina y adquiere una mayor carga eléctrica negativa, por lo que se desplazará hacia el ánodo. A continuación, se hace correr la placa en la segunda dimensión en un gel que contiene el anticuerpo anti-antitrombina. Una vez teñida la placa, se podrá ver si hay diferencia entre la carrera realizada por la antitrombina en estudio respecto a la que realiza un control.

Proteína C

Los métodos para la determinación funcional de la proteína C (PC) se basan en la activación del zimógeno inactivo a serín-proteasa activa para, después, medir la proteína C activada sobre un sustrato. Para activar la PC puede utilizarse el complejo trombina-trombomodulina, que sería el más fisiológico, o venenos de serpiente que tienen capacidad para romper el péptido de activación y producir proteína C activada (lo más habitual). En cuanto a la detección de la proteína C activada se puede utilizar un sustrato cromogénico o bien su sustrato natural, que es el factor Va y el VIIIa del plasma. En el primer caso, se trata de un método colorimétrico que valora la capacidad de la PC activada de romper un sustrato artificial de pequeño peso molecular, y en el segundo, de una técnica coagulativa en la que se valora el alargamiento del tiempo de coagulación por la PC activada. En el caso de encontrar una disminución de PC por un método funcional, es conveniente dosificarla con un método antigénico para ver si se trata de un defecto de síntesis o tipo I o de una proteína disfuncional o tipo II.

Proteína S

Esta proteína es un cofactor no enzimático para la actividad de la PC activada sobre los factores Va y VIIIa. La proteína S (PS) circula en el plasma en un 60% unida al C4bBP. La PS libre es la que actúa como cofactor de la PC activada. Así, para evaluar la concentración de PS hay que conocer la concentración de PS total, la PS libre y la PS funcional que informa de la actividad como cofactor de la PC activada. Para dosificar la PS total y libre suelen emplearse métodos de tipo ELISA o de electroinmunoensayo. Para dosificar la PS libre se utilizan métodos que eliminan los complejos C4bBP-PS mediante una precipitación con polietilenglicol, o bien se dosifica en un ELISA que utiliza anticuerpos específicos para la zona de unión de la PS con el C4bBP, zona que sólo está expuesta en la PS libre. El método funcional se basa en medir el alargamiento de un tiempo de cefalina o de protrombina en el que el plasma del enfermo se ha diluido en plasma defi-

ciente en PS y al que se añade factor V y PC activada. El alargamiento del tiempo de coagulación es proporcional a la concentración de PS.

Los defectos de proteína S son de tres tipos. El tipo I presenta niveles bajos de PS total, libre y funcional; el tipo II presenta niveles normales de PS total y libre, y disminución de la PS funcional (este tipo es muy poco frecuente y muchos casos que se habían descrito en la literatura se ha comprobado posteriormente que se trataba de enfermos con un factor V más resistente a la lisis por la PC activada: el factor V Leiden). El tipo III presenta niveles normales de PS total, y bajos de PS libre y funcional. El principal problema para el diagnóstico del déficit de PS es su elevada variabilidad biológica. Varía con la edad, el sexo y el estado hormonal. Las mujeres jóvenes tienen niveles de PS más bajos que los hombres, y son especialmente bajos en el embarazo. Disminuye con la ingesta de anticoagulantes orales, y es una de las proteínas vitamina-K dependientes que tardan más en recuperarse (10-15 días) cuando se dejan de tomar los anticoagulantes orales.

Resistencia a la PC activada (RPCA)

Con esta técnica se valora la capacidad de la PCA para alargar el tiempo de coagulación de un plasma. El método para estudiar esta resistencia consiste en realizar un tiempo de tromboplastina parcial activada en presencia y en ausencia de PCA exógena. El resultado se expresa en razón del tiempo obtenido con PCA respecto al obtenido en ausencia de PCA. En una variante de este método se utiliza el plasma del enfermo diluido con plasma deficiente en factor V; de esta manera, el método solamente detecta defectos en el factor V, y tiene una gran sensibilidad y especificidad para la detección del factor V Leiden. El test inicial está influido por muchos factores: embarazo, ingesta de anticonceptivos orales, anticoagulantes tipo lupus, niveles elevados de factor VIII, etc., lo que hace que facilite una información adicional de la respuesta del plasma a la PCA a la que aporta el método modificado, que sólo indica la presencia o ausencia del factor V Leiden.

Mutación Factor V Leiden

La técnica consiste en la detección del cambio del nucleótido 1691 G → A en el gen del factor V, que corresponde en la proteína a un cambio de la Arg506 por Gln. Como consecuencia, el factor V es más resistente a la degradación por la PCA. El diagnóstico se basa en el análisis de la molécula de DNA, mediante la amplificación por PCR de un fragmento genómico que contiene el nucleótido 1691 G/A y digestión con una enzima de restricción.

Mutación G20210A del gen de la protrombina

La detección de esta mutación consiste en la amplificación de un fragmento genómico en la zona 3' (zona no codificadora) del gen de la protrombina que contiene el nucleótido 20210 G/A, y posterior digestión con una enzima de restricción. La presencia de esta variante se ha asociado con niveles más elevados de factor II, y a un incremento del riesgo trombótico.

Otras pruebas

Cofactor II de la heparina

Su dosificación consiste en incubar el plasma con un exceso de trombina, en presencia de sulfato de dermatán. Mediante un sustrato cromogénico, se mide la trombina residual, que será inversamente proporcional al cofactor II de la heparina presente en el plasma.

TFPI

Es el inhibidor de la vía extrínseca. Su determinación puede realizarse mediante una prueba funcional o cuantificando el antígeno. La prueba funcional[51] consiste en añadir al plasma una mezcla de factores VIIa, Xa, TF y calcio, para que el TFPI pueda formar el complejo cuaternario. Después, se añade factor Xa bovino y un sustrato cromogénico que mide el factor Xa residual. La concentración de Xa residual será inversamente proporcional al TFPI.

Plasminógeno

Se incuba el plasma con un exceso de estreptocinasa que forma un complejo con el plasminógeno capaz de degradar un sustrato cromogénico. La concentración del complejo es directamente proporcional al plasminógeno presente en el plasma.

α_2-Antiplasmina

El plasma se incuba con un exceso de plasmina. Con un sustrato cromogénico se mide la cantidad de plasmina residual, que será inversamente proporcional a la capacidad antiplasmínica del plasma, que es debida prácticamente en su totalidad a la α_2-antiplasmina.

Activador tisular del plasminógeno (t-PA)

La prueba funcional se basa en la transformación del plasminógeno en plasmina mediante el t-PA del enfermo, en presencia de monómeros de fibrina que estimulan la reacción. Se dosifica incubando el plasma en estudio con plasminógeno, un sustrato cromogénico y monómeros de fibrina. La sangre se ha de acidificar inmediatamente después de la extracción para eliminar los inhibidores, en especial el PAI. Se puede dosificar también mediante un método antigénico de ELISA. La mayoría de los ELISA comerciales dosifican el t-PA total, tanto el libre como el que está unido a su inhibidor, el PAI.

Inhibidor del t-PA (PAI)[52]

El PAI está en plasma en tres formas: activa, inactiva y unido al t-PA o a la uroquinasa (u-PA). El método funcional mide la forma activa, y consiste en incubar el plasma en estudio con un exceso de plasminógeno, con uroquinasa y con un sustrato cromogénico sensible a la plasmina. La degradación del sustrato es directamente proporcional a la plasmina generada, e inversamente proporcional a la concentración de PAI. La dosificación antigénica con un método de ELISA mide todas las formas. Para su dosificación, la sangre debe recogerse en un tubo que contenga inhibidores de la activación plaquetaria, ya que las plaquetas son ricas en PAI, y con la manipulación de la muestra este PAI puede pasar al plasma.

Glucoproteína rica en histidina (HRG)

Esta proteína se dosifica mediante un método antigénico, en general, un electroinmunoensayo.

Inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina (TAFI)

El TAFI es un inhibidor de la fibrinólisis en el plasma. Se activa por la trombina, y de manera más eficaz si hay trombina-trombomodulina en el medio. Una vez activado, es antifibri-

nolítico, ya que elimina las lisinas carboxiterminales de la fibrina, que es donde el plasminógeno se une. Para determinarlo, se activa primero con trombina-trombomodulina. Después se incuba con el sustrato hipuril-Arg, y después se determina el hipurato producido, añadiendo cloruro de cianuril disuelto en dioxano, que da un color que puede medirse en un espectrofotómetro.

ADAMTS-13

El ADAMTS-13 es una metaloproteasa que rompe de manera específica los multímeros de alto peso molecular del factor Von Willebrand que secreta el endotelio. Los fragmentos menores tienen menor actividad procoagulante, se unen menos al colágeno y tienen menos actividad como cofactor de la ristocetina. La enzima está disminuida o ausente en pacientes con púrpura trombótica trombocitopénica familiar, o está bloqueada por un anticuerpo que la inhibe en los casos esporádicos, que son las más frecuentes. Una posible técnica para su determinación consiste en incubar el plasma con $BaCl_2$ y una cantidad conocida de factor Von Willebrand. Durante la incubación el factor se degrada y pierde su capacidad de unión al colágeno. Después, se mide la capacidad residual de unión al colágeno del factor Von Willebrand, que es inversamente proporcional a la cantidad de ADAMTS-13 presente en el plasma. La detección de inhibidor consiste en hacer mezclas de plasma control y plasma del paciente, incubarlos 1 hora a 37 °C y medir la cantidad de ADAMTS-13 de cada muestra.

EXPLORACIÓN CLÍNICA DE LA HEMOSTASIA

Al igual que en cualquier especialidad médica, el diagnóstico apropiado de un trastorno de la hemostasia exige la realización de una historia clínica, una exploración física y un estudio complementario de laboratorio. Existen dos síndromes clínicos fundamentales relacionados con la hemostasia: la diátesis hemorrágica y la enfermedad tromboembólica. Antes de abordar la investigación específica de una de estas entidades hay que recordar que no siempre se deberán a trastornos puros de la hemostasia, siendo entonces expresión secundaria de otras patologías sistémicas. Por ello, la anamnesis general, la exploración física de todos los aparatos y la realización de análisis básicos de laboratorio son obligatorias para la correcta práctica clínica.

Enfermedades hemorrágicas

La hemorragia es la presencia anormal de sangre, en cantidad macroscópica, fuera del árbol circulatorio. Una hemorragia aislada, explicada por un traumatismo y de un volumen proporcionado a la lesión, no suele ser manifestación de una enfermedad de la hemostasia. Lo mismo sucede con las hemorragias localizadas, aunque sean de repetición. Así, en casos de hemoptisis, hematemesis, melenas, hematoquecia, hematuria, hemotórax, hemoperitoneo, hemorragia intracraneal o hemorragia vítrea, hay que sospechar patologías locales en primer lugar.

Por el contrario, la *diátesis hemorrágica* es la predisposición al sangrado, a veces fácil e incluso espontáneo, en distintos lugares del organismo, bien de forma simultánea o consecutiva en el tiempo. Una verdadera diátesis hemorrágica refleja con mucha probabilidad un trastorno grave de la hemostasia. En la tabla 33.4 se describe un índice clínico práctico para evaluar la sospecha de diátesis hemorrágica causada por defectos de la hemostasia.

Anamnesis

Debe realizarse una descripción minuciosa de los episodios hemorrágicos: localización, intensidad, edad de inicio y circunstancias asociadas. Esta información es muy valiosa para orientar el diagnóstico.

Localización

Las hemorragias cutáneas (púrpuras), mucosas y las menorragias son típicas de las trombocitopatías, trombocitopenias y enfermedad de Von Willebrand. En general, se deben a trastornos de la hemostasia primaria. Las hemorragias articulares (hemartrosis) y las musculares son típicas de las coagulopatías plasmáticas, en especial de las hemofilias A y B.

Intensidad

Toda hemorragia postraumática desproporcionada por su intensidad o por su duración debe ser investigada.

Edad de comienzo

La diátesis hemorrágica en la infancia suele deberse a trastornos hereditarios graves. Cuando se manifiesta en la edad adulta, cabe esperar trastornos hereditarios moderados o leves o bien patología adquirida o secundaria a otros procesos sistémicos.

Circunstancias asociadas

Hay que registrar si la hemorragia ha sido espontánea o se debe a un traumatismo leve. Existen situaciones típicamente asociadas al inicio de la enfermedad y que son motivo de sospecha: caída del cordón umbilical, inicio de la deambulación o gateo, vacunaciones infantiles, circuncisión, exodoncias y otras (afeitado, mordedura de lengua, etc.).

Historia familiar

La anamnesis permite averiguar si el proceso es hereditario o adquirido. Hay que determinar el sexo de todos los familiares afectados, puesto que las hemofilias A y B inciden en varones, mientras que el resto de las coagulopatías congénitas afectan a ambos sexos.

Ingesta de fármacos

Debe descartarse el consumo de anticoagulantes (cumarínicos, heparinas, heparinoides, hirudina y otros inhibidores de la trombina) o de antiagregantes plaquetarios. El motivo es doble. Estos fármacos pueden ser los responsables de las hemorragias y también pueden interferir la investigación de laboratorio. Hay que conocer cualquier otro medicamento consumido recientemente porque muchos fármacos, aunque raramente, causan trombocitopenias.

Descartar otras patologías

Otras patologías podrían explicar los síntomas clínicos hemorrágicos:

1. Hepatopatías, responsables de trastornos generales de la coagulación plasmática y trombocitopenias.
2. Insuficiencia renal, asociada con trombocitopatía.
3. Enfermedades intestinales causantes de malabsorción y déficit de vitamina K.

TABLA 33.4

Índice de sospecha de diátesis hemorrágica

Historia familiar positiva		40
Edad	0-2 semanas	50
	2 semanas-18 meses	25
Hemorragias cutáneas	Telangiectasias	80
	Petequias	80
	Equimosis espontáneas	50
	Equimosis traumáticas fáciles	10
	Sangrado prolongado cortes (>1 h)	50
Epistaxis	Infrecuente o fácil de controlar	10
	Frecuente o prolongada	50
Gingivorragias	Tras cepillado	10
(si la hemorragia > 30 min)	Laceraciones	50
	Caída de dientes de leche	50
Hematomas	Subcutáneos de gran tamaño, musculares o retroperitoneales	50
Hemoptisis		20
Hematemesis	Sin lesión anatómica demostrable	20
Melenas		20
Hematuria		50
Hemartrosis	Espontáneas o tras trauma leve	50
Hemorragia posquirúrgica	Circuncisión	40
(durante más de 1 hora o sangrado diferido)	Tonsilectomía	40
	Adenoidectomía	40
	Extracciones dentarias	20
	Otras	20
	Más de una vez	20-40
Hemorragia posparto	Meno/metrorragia	20
Hemorragia intracraneal		30
Hemorragia umbilical		40

Puntuación	100+	Alta sospecha
	50-90	Sospechoso
	10-40	No relacionado con defectos en la hemostasia

4. Hematológicas, como leucemias con afectación grave de la médula ósea y trombocitopenia intensa.
5. Enfermedades febriles, amigdalitis o reumatismo, causantes de toxicidad capilar y vasculitis.

Exploración física

Debe realizarse una exploración física general para descartar, por ejemplo, esplenomegalia, que orientaría la causa de la hemorragia hacia una trombocitopenia. El examen físico específico de las lesiones hemorrágicas es importante para el diagnóstico de sospecha, sobre todo en las hemorragias cutáneas (púrpuras, v. tabla 33.5). Las trombocitopenias y las lesiones capilares provocan púrpuras de tipo petequial y equimótico. Las hemofilias predisponen a los hematomas profundos (musculares o subcutáneos) y a las hemartrosis. Las lesiones de tipo petequial acompañadas de inflamación y que no desaparecen a la presión son típicas de las púrpuras vasculares, como la enfermedad de Schöenlein-Henoch o la crioglobulinemia mixta esencial. En cambio, las lesiones telangiectásicas de la enfermedad de Rendu-Osler o de la cirrosis desaparecen al ser comprimidas. En la tabla 33.6 se muestra cómo se orienta el diagnóstico de un trastorno de la hemostasia a partir de las pruebas globales más usuales en el laboratorio de hemostasia.

Enfermedad tromboembólica

El síndrome clínico de tromboembolismo es la consecuencia de la obstrucción aguda del flujo sanguíneo provocada por el trombo vascular. Los síntomas distales a la posición del coágulo son debidos a la congestión en el territorio venoso y a la isquemia en el arterial. Nos centraremos en el diagnóstico de la trombosis venosa profunda (TVP) y el tromboembolismo pulmonar (TEP). En los últimos años se ha producido un cambio importante en este campo, al evidenciarse que el diagnóstico puramente clínico es inadecuado. Tan sólo en un tercio de los pacientes con sospecha clínica de TVP se confirma el trastorno mediante una prueba diagnóstica objetiva. Por otra parte, también hay un número considerable de casos con TVP asintomáticas, que sólo pueden diagnosticarse con pruebas complementarias. En resumen, el diagnóstico exclusivamente clínico no es específico y comportaría el tratamiento de excesivos pacientes sin TVP, por lo que siempre se debe realizar un diagnóstico objetivo.

Anamnesis y exploración física

Aunque, como se ha dicho, son poco sensibles y específicas, constituyen el punto de partida para la sospecha de TVP. Los elementos más importantes que se deben considerar son:

TABLA 33.5

Diagnóstico diferencial de las púrpuras cutáneas

1. Causadas por un trastorno específico de la hemostasia
- A. Plaquetar (trombocitopenia, trombocitopatía)
- B. Coagulopatía (hemofilias, enfermedad de Von Willebrand)

2. Causadas por un trastono ajeno a la hemostasia
- A. Aumento de la presión intraluminal
  - Agudo: tos, vómito, esfuerzo, maniobra de Valsalva
  - Crónico: varices, por incompetencia de las válvulas venosas
- B. Disminución de la resistencia mecánica en el tejido conjuntivo o en los capilares
  - Púrpura senil
  - Púrpura simple femenina
  - Corticoideas/Síndrome de Cushing
  - Síndrome de Ehlers-Danlos
  - Infiltración amiloide de los vasos
- C. Traumatismo vascular
  - Físico
  - Radiación ultravioleta (eritema solar)
  - Infecciones (CID, gérmenes gramnegativos, meningococo, vasculitis, embolia séptica)
  - Fármacos
  - Alergia (dermatitis por contacto)
  - Embolia grasa o aterosclerótica
  - Infiltración neoplásica (histiocitosis X, linfoma)
  - Tromboembolismo
  - Necrosis por cumarínicos (déficit de proteínas C y S)
  - *Purpura fulminans*
  - Hemoglobinuria paroxística nocturna
  - Disproteinemias (crioglobulinemia, macroglobulinemia de Waldenström)
  - Vasculitis

3. Enfermedades NO purpúricas que simulan púrpura
- A. Telangiectasias
  - Angiomas (puntos rubí)
  - Telangiectasia hereditaria (enfermedad de Rendu-Osler)
  - Esclerodermia
  - En araña (hepatopatías crónicas)
- B. Sarcoma de Kaposi
- C. Enfermedad de Fabry

1. *Factores de riesgo vascular venoso*: edad avanzada, inmovilización, cirugía, embarazo, anticonceptivos orales, neoplasia, TVP previas, enfermedades protrombóticas (v. tabla 33.7), traumatismos.
2. *Antecedentes familiares*: se debe interrogar específicamente sobre la existencia de antecedentes trombóticos venosos o arteriales, abortos y pérdidas fetales.
3. *Instauración*: habitualmente progresiva, en el curso de varios días.
4. *Dolor*: acostumbra a ser el primer síntoma. Es variable, y en el caso de TVP de extremidades inferiores (la más frecuente), se sitúa en la región gemelar; también puede afectar a la pierna y a toda la extremidad. Se proyecta sobre los trayectos venosos palpables: fosa poplítea, triángulo de Scarpa o canal de Hunter. En ocasiones es muy intenso y empeora con la deambulación, con la presión de la masa muscular, al palpar los cordones venosos trombosados o al flexionar el pie en dirección dorsal.
5. *Edema de la extremidad*: puede instaurarse de forma brusca o progresiva: a la presión deja *fóvea*, y es levemente cianótico y asimétrico respecto a la extremidad contralateral.
6. *Hipertermia local*.
7. *Diagnóstico diferencial*: debe realizarse con contracturas musculares, esguinces, cambios vasomotores en extremidades paréticas, linfangitis, obstrucciones linfáticas, quiste de Baker, celulitis, edemas de origen cardíaco, hepático o renal y hematomas. El propio síndrome postrombótico puede confundir con un episodio agudo de TVP.

La sospecha clínica de embolia de pulmón aparece casi siempre en un contexto común con el de TVP, cuando se presentan los síntomas o signos respiratorios típicos: disnea súbita, dolor en punta de costado, hemoptisis, cambios electrocardiográficos sugestivos. En esta situación es obligatorio confirmar el diagnóstico mediante gammagrafía pulmonar de ventilación/perfusión o arteriografía. Si no existía el diagnóstico previo de TVP, también se debe realizar una exploración bilateral de las extremidades inferiores.

Exploraciones complementarias

Para el diagnóstico del episodio agudo de TVP y TEP se debe realizar una prueba objetiva, de elección no invasiva, como la ecografía Doppler de extremidades o la gammagrafía pulmonar de ventilación y perfusión, o TC espiral para el TEP. En caso de resultados dudosos ante cuadros clínicos muy sugestivos, se procederá a realizar una flebografía ascendente o una arteriografía pulmonar. Otra técnica de utilidad más restringida es la determinación del dímero D. Esta última sólo tiene utilidad para excluir un proceso trombótico, en cuyo caso resultarán valores normales de dímero D. El dímero D no sirve para confirmar una trombosis, porque, aunque resulta patológico en casos de TVP o TEP, existen multitud de procesos en los que los niveles de este marcador también aumentan (edad avanzada, neoplasias, infecciones, postoperatorio, etc.).

En casos de sospecha de trombosis en localizaciones atípicas (v. «trombofilia»), se necesitan otros procedimientos diagnósticos especiales como la TC, la RM o incluso la cirugía. También la ecografía abdominal puede ser de utilidad en regiones como la renal, hepato-espleno-portal o ginecológicas.

Ante todo paciente con un episodio trombótico venoso agudo debe realizarse una analítica básica para descartar enfermedades subyacentes: hemograma, VSG, ionograma, perfiles hepático y renal, glucemia, LDH, proteínas totales y albúmina. También se indicará una radiografía simple de tórax y un ECG.

Investigación de trombofilia

La *trombofilia* es una tendencia acusada al tromboembolismo, en especial de tipo venoso. En muchos casos se debe a factores hereditarios. Por este motivo y por su impacto clínico en el paciente, debe investigarse adecuadamente, por lo general, en centros de referencia especializados. Se define la trombofilia si existe uno de los siguientes criterios:

1. Primer episodio tromboembólico venoso antes de los 45 a 50 años o idiopático antes de los 55-60.
2. Episodios de repetición.
3. Antecedentes familiares claros de trombosis.

TABLA 33.6

Orientación diagnóstica del trastorno de la hemostasia a partir de las pruebas globales de la hemostasia

Posible alteración	Plaquetas (n: 150-400 × 10^9/L	T. de Ivy (n < 9 min)	T. de protrombina (n: 0,8-1,2 ratio)	APTT (n: 0,8-1,3 ratio)	T. de trombina (n: 20-24 s)	T. de reptilase (n: 18-20 s)	Fibrinógeno (n: 1,5-4 g/L)	PDF
Déficit de factores de contacto, XII, XI, IX, VIII Anticoagulante lúpico	N	N	N	↑	N	N	N	N
Tratamiento con anticoagulantes orales	N	N	↑	↑	N	N	N	N
Tratamiento con heparina	N	N	N	↑	↑	N	N	N
Déficit de factor VII	N	N	↑	N	N	N	N	N
Déficit de factores II, V, X	N	N	↑	↑	↑	N	N	N
Disfibrinogenemias	N	N	↑	N	↑	↑	↓	N
Enfermedad de Von Willebrand	N	↑	N	↑	N	N	N	N
Trombocitopenia	↓	↑	N	N	N	N	N	N
Trombocitopatía	N o ↓	↑	N	N	N	N	N	N
Déficit de factor XIII	N	N	N	N	N	N	N	N
CID	↓	↑	↑	↑	↑	↑	↓	↑

TABLA 33.7

Causas de trombofilia secundaria

Embarazo y puerperio
Anticonceptivos orales
Terapia estrogénica por infertilidad
Síndrome nefrótico
Neoplasias (síndrome de Trousseau)
Síndromes mieloproliferativos crónicos
- Leucemia mieloide crónica
- Policitemia vera
- Trombocitemia esencial

Quimioterapia
Hemoglobinuria paroxística nocturna
Enfermedad inflamatoria intestinal
- Colitis ulcerosa
- Enfermedad de Crohn

Enfermedad de Behçet
Drepanocitosis
Síndromes de hiperviscosidad
- Leucemias
- Gammapatías monoclonales

4. Localización atípica de la trombosis (senos venosos cerebrales, mesentérica, suprahepática, esplenoportal, renal).

Todo paciente con trombofilia, independientemente de si ha presentado episodios espontáneos o secundarios (a factores conocidos de riesgo, como cirugía o embarazo, etc.) debe someterse a una exploración analítica dirigida a los factores de riesgo biológico de trombosis.

Trombofilia secundaria

Bajo esta denominación se incluye una extensa serie de situaciones o patologías que se asocian con un estado protrombótico. Clínicamente, la presencia de trombosis suele ser frecuente, y en muchas de estas situaciones se indica la profilaxis antitrombótica. La fisiopatogenia de la tendencia trombótica suele ser muy compleja y no está bien explicada en casi ninguna de estas entidades. La tabla 33.7 presenta una lista de las más conocidas. En la mayoría de los casos el estudio biológico de trombosis resulta completamente normal, por lo que en general no debe realizarse. Como excepción, se recomienda una investigación solamente en las trombosis asociadas con embarazo, puerperio y consumo de anticonceptivos orales o estrógenos para infertilidad. Por definición, estas situaciones afectan a mujeres jóvenes, en edad fértil, en las que no es raro diagnosticar factores de riesgo trombótico hereditarios como las mutaciones factor V Leiden o PT G20210A o anticuerpos antifosfolípidos. En el caso de síndrome nefrótico con patología renal, la trombofilia puede deberse a un déficit de antitrombina, proteína de tamaño similar a la albúmina que se pierde en exceso por la orina. El síndrome de Trousseau o *tromboflebitis migrans* consiste en la aparición de trombosis venosas profundas o superficiales de forma recurrente, en distintos lugares, en pacientes diagnosticados de cáncer. Se observa con mayor frecuencia en neoplasias pélvicas, abdominales o metastásicas. En ocasiones, es resistente al tratamiento anticoagulante. En relación con las trombosis paraneoplásicas hay que destacar otro hecho clínico importante: un porcentaje considerable de individuos (7-8%) que presentan tromboembolismo idiopático, es decir, sin asociación a factores de riesgo conocido (cirugía, inmovilización, embarazo, traumatismo, etc.) desarrollan con el tiempo procesos cancerosos. Sin

embargo, esta asociación es típica de los pacientes de edad avanzada y apenas se observa en individuos jóvenes. Entre los pacientes con hemoglobinuria paroxística nocturna, hasta el 40% padecen algún episodio de tromboembolismo. La enfermedad inflamatoria intestinal (colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn) se asocia con frecuencia a episodios tromboembólicos, sobre todo en los brotes de reagudización inflamatoria. Existe un estado protrombótico en estos pacientes, que incluso se ha relacionado con la etiología de la propia enfermedad de base.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cines DB, Pollak ES, Buck CA, et al. Endotelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. Blood 1998; 91:3527-3561.
2. Schwartzs SM, Mejesky MW. Structure and function of the vessel wall. En: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW, eds. Hemostasis and thrombosis. Basic principles and clinical practice. Philadelphia: J.B.Lippincott Company, 1994; 705-717.
3. Colman RW, Marder VJ, Salzman EW, Hirsh J. Overview of hemostasis. En: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW, eds. Hemostasis and thrombosis. Basic principles and clinical practice. Philadelphia: J.B.Lippincott Company, 1994; 3-18.
4. Pujol-Moix N. Anatomía de las plaquetas. Interacciones estructura-función. En: Pujol-Moix N, eds. Trombocitopenias. Madrid: Mosby/Doyma Libros, 1995; 3-10.
5. White JG. Anatomy and structural organization of the platelet. En: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW, eds. Hemostasis and thrombosis. Basic principles and clinical practice. Philadelphia: J.B.Lippincott Company, 1994; 397-413.
6. Brass L, Stalker TJ, Zhu L et al. Boundary effects: contact-dependent and contact-facilitated signaling between platelets. Semin Thromb Hemost 2004; 30:399-410.
7. Kahn ML.Platelet-collagen responses: Molecular basis and therapeutic promise. Semin Thromb Hemost 2004; 30:419-426.
8. Charo IF, Kieffer N, Phillips DR. Platelet membrane glycoproteins. En: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW, eds. Hemostasis and thrombosis. Basic principles and clinical practice. Philadelphia: J.B. Lippincott Company, 1994; 489-507.
9. Cullaré C, Castellarnau C. Estudios bioquímicos y funcionales de las plaquetas. En: Pujol-Moix N, eds. Trombocitopenias. Madrid: Mosby/Doyma Libros, 1995; 139-156.
10. Díaz-Ricart M, Escolar G, Ordinas A. Composición química y funciones de las plaquetas. En: Pujol-Moix N (eds.). Trombocitopenias. Madrid: Mosby/Doyma Libros, 1995:11-44.
11. Colman RW, Cook JJ, Niewiarowski S. Mechanisms of platelet aggregation. En: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds.). Hemostasis and thrombosis. Basic principles and clinical practice. Philadelphia: J.B. Lippincott Company, 1994; 508-523.
12. Holmsen H. Platelet secretion and energy metabolism. En: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW, eds. Hemostasis and thrombosis. Basic principles and clinical practice. Philadelphia: J.B. Lippincott Company, 1994;524-546.
13. Buensuceso CS, Arias-Salgado E, Shattill S. Protein-protein interactions in platelet $\alpha_{IIb}\beta_3$. Semin Thromb Hemost 2004; 30:427-440.
14. Murugappan Shankar H, Kunapuli S. Platelet-receptors for adenine nucleotides and thromboxane A_2. Semin Thromb Hemost 2004; 30:411-418.
15. Reed GL. Platelet secretory mechanisms. Semin Thromb Hemost 2004; 30:441-450.
16. Walsh PN. Platelet coagulation-protein interactions. Semin Thromb Hemost 2004; 30:461-472.
17. May AE, Neumann FJ, Preissner KT. The relevance of blood cell-vessel wall adhesive interactions for vascular thrombotic disease. Thromb Haemost 1999; 82:962-970.
18. Hawiger J. Adhesive interactions of blood cells and the vascular wall. En: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds.). Hemostasis and thrombosis. Basic principles and clinical practice. Philadelphia: J.B. Lippincott Company, 1994; 762-796.
19. Van Dam-Mieras MC, Muller AD. Blood Coagulation as a part of the haemostatic system MCE. En: Zwaal RFA and Hemker HC, eds. Blood Coagulation. Amsterdam, New York, Oxford: Elsevier, 1986.
20. Mann KC. Biochemistry and Physiology of Blood Coagulation. Thromb Haemost 1999; 82:165-174.
21. Rappaport S, Rao VM. The tissue factor pathway: How it has become a «Prima Ballerina» Thromb Haemost 1995; 74:7-17.
22. Petersen LC, Valentin S, Hedner U. Regulation of the extrinsic pathway system in healthy and disease: the role of factor VIIa and tissue factor pathway inhibitor. Thromb Res 1995; 79:1-47.
23. Davie EW, Fujikawa K, Kissiel W. The coagulation cascade: Initiation, maintenance and regulation. Biochemistry 1991; 30:10363-10370.
24. Colman RW, Schmainer AM. Contact system. A vascular biology modulator with anticoagulant, profibrinolytic, antiadhesive and proinflamatory attributes. Blood 1997; 90:3819-3843.
25. Tuddenham EGD, Cooper DN. Fibrinogen. En: The molecular genetics of haemostasis and its inherited disorders. Oxford University Press, 1994.
26. Henschen AH. Human Fibrinogen-Structural variants and functional sites. Thromb Haemost 1993; 70:42-47.
27. Bombeli T, Muelier M, Haeberli A. Anticoagulant properties of the vascular endothelium. Thromb Haemost 1997; 77:408-423.
28. Van Boven HH, Lane D. Antithrombin and its inherited deficiency states. Semin Hematol 1997; 34:188-204.
29. Dahlbäck B. The protein C anticoagulant system. Inherited defects as basis for venous thrombosis. Thromb Res 1995; 77:1-43.
30. Wallen P, Wiman B. Characterization of human plasminogen. Separation and partial characterization of different molecular forms of human plasminogen. Biochem Biophys Acta 1972; 257:122-134.
31. Collen D. On the regulation and control of fibrinolysis Thromb Haemost. 1980; 43:123-132.
32. Nesheim M, Wei W, Boffa M, Nagashima M, Morser J, Bajzar L. Thrombin, Thrombomodulin and TAFI in the molecular link between coagulation and fibrinolysis. Thromb Haemost 1997; 78:386-391.
33. Sprengers ED, Kluft C. Plasminogen activator inhibitors. Blood 1987; 69:460-466.
34. Mora Salvador J. Exploración de la cinética plaquetaria. En: Pujol-Moix N, ed. Trombocitopenias. Madrid: Mosby/Doyma Libros, 1995:161-169.
35. Bahouh WF, Gnatenco DV. Platelet transcriptome: the application of microarray analysis to platelets. Semin Thromb Hemost 2004; 30:473-484.
36. García A, Zitzmann N, Watson SP. Analyzing the platelet proteome. Semin Thromb Hemost 2004; 30:465-490.
37. NCCLS document H21-A. Collection, transport and preparation of blood specimens for coagulation assays. Approved guideline H21-A Vilanova PA: NCCLS 1986; Vol 6 n.º 20.
38. Caen J, Larrieu MJ, Samama M. L'Hémostase. Méthodes d'exploration et diagnostique practique. L'Expansion Scientifique Française. París, 1975.
39. Clauss A. Gerinnungsphysiologische schmellmethode zur Bestimung des Fibrinogens Acta Haematol 1946; 17:237-246.
40. Weiss. Quantitative assay of plasma factor deficient in Von Willebrand disease that is necessary for platelet aggregation. Relationship to factor VIII procoagulant activity and antigen content. J Clin Invest 1973; 52:2708-2716.
41. Fickenacher AK, Aab A, Sttüber W. Photometric assay for blood coagulation factor XIII. Thromb Haemost 1991; 65:535-540.
42. Brandt JT, Tripett DA, Alving B, Scharrer I. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: An update. Thromb Haemost 1995; 74:1185-1190.
43. Exner T, Rickard KA, Kronenberg H. A sensitive test demonstrating lupus anticoagulant and its behavioral patterns. Br J Haematol 1978; 40:143-151.

CAPÍTULO 34

Trombocitopenias y trombocitopatías

N. Pujol-Moix, E. Muñiz y C. Besses

ÍNDICE

Introducción
Etiología, fisiopatología y clasificación
- Etiología y fisiopatología de las trombocitopenias
- Etiología y fisiopatología de las trombocitopatías
- Clasificación general de las trombocitopenias y trombocitopatías

Aproximación clínica y analítica al paciente con trombocitopenia o trombocitopatía
- Protocolo diagnóstico clinicobiológico de la trombocitopenia
- Aspectos clínicos y diagnósticos de las trombocitopatías
- Técnicas generales de laboratorio
- Técnicas bioquímicas, funcionales y morfológicas especiales
- Técnicas inmunohematológicas
- Cinética plaquetaria

Trombocitopenias y trombocitopatías adquiridas
- Púrpura trombocitopénica autoinmune
- Trombocitopenias inmunes inducidas por fármacos
- Trombocitopenia cíclica periférica
- Seudotrombocitopenia inmune
- Trombocitopenias aloinmunes
- Trombocitopatías adquiridas

Patología plaquetaria genética
- Macrotrombocitopenias genéticas sin diátesis hemorrágica valorable
- Patología de la adhesión y la agregación
- Alteraciones de la actividad procoagulante
- Patología de la secreción y de la activación
- Patologías complejas e inclasificables
- Patologías secundarias a alteraciones congénitas de otros sistemas
- Tratamiento y profilaxis de las hemorragias en las trombocitopenias/trombocitopatías genéticas
- Relación entre los aloantígenos plaquetarios y el riesgo genético para determinadas enfermedades

Bibliografía

INTRODUCCIÓN

La **trombocitopenia** o **plaquetopenia** es la disminución de la cifra de plaquetas sanguíneas por debajo de su límite inferior normal, es decir, de 150×10^9/L[1,2]. En los últimos años, la aparición de los contadores automáticos de células ha propiciado, con cierta frecuencia, la detección de trombocitopenias moderadas, entre 100 y 149×10^9 plaquetas/L. Ello es debido a que los autoanalizadores tienden a excluir las plaquetas grandes del recuento y, habitualmente, esta omisión no es suficiente para dar lugar a una trombocitopenia. No obstante, en los individuos en que el número de plaquetas está cercano al límite inferior de la normalidad produce una trombocitopenia moderada, que se corrige al efectuar un recuento microscópico.

Algunos autores, basándose en la detección de trombocitopenias moderadas en individuos aparentemente sanos, han establecido límites inferiores de normalidad más bajos, alrededor de 100×10^9/L. Sin embargo, en nuestra opinión, la franja de trombocitopenias moderadas está compuesta por distintos tipos de situaciones clinicobiológicas que no deben ser confundidas entre sí. Lo más probable es que se trate de una falsa trombocitopenia, por macrocitosis plaquetaria o por formación de agregados, pero también podría corresponder a alguna patología plaquetaria genética o a una mielodisplasia incipiente.

La **trombocitopatía** se define como un déficit funcional de las plaquetas. En la práctica, se manifiesta con diátesis hemorrágica sin trombocitopenia ni alteraciones de la coagulación, o bien, por coincidir un sangrado exagerado con cifras de plaquetas poco disminuidas.

Se entiende por **trombocitosis** el aumento de plaquetas circulantes por encima de las cifras normales, es decir, superiores a 380×10^9/L. A diferencia de la trombocitopenia, que puede aparecer en múltiples situaciones clínicas, la trombocitosis, aparte de ser mucho menos habitual, se presenta en un número limitado de patologías, fundamentalmente en síndromes mieloproliferativos crónicos. Las trombocitosis se tratan en el Capítulo 16.

ETIOLOGÍA, FISIOPATOLOGÍA Y CLASIFICACIÓN

Etiología y fisiopatología de las trombocitopenias

Las cifras normales de plaquetas se mantienen gracias al equilibrio entre el aporte –trombocitopoyesis–, las pérdidas –consumo, destrucción–, y la correcta distribución entre el compartimento circulante y el de secuestro en el bazo[2]. En condiciones fisiológicas, la producción diaria de plaquetas compensa las pérdidas por consumo y por destrucción de los elementos viejos en el sistema mononuclear fagocítico (SMF); asimismo, la distribución se mantiene con un tercio de las plaquetas retenidas en el bazo.

La **etiología** de la trombocitopenia es muy variada e incluye factores genéticos, neoplásicos, inmunitarios, infecciosos y tóxicos. Entre ellos, cabe destacar por su frecuencia los de naturaleza inmunitaria, combinados o no con otras causas. En cuanto al **mecanismo patogénico**, las trombocitopenias se dividen en centrales –por alteraciones en la trombocitopoyesis–, periféricas –por aumento de las pérdidas–, o por secuestro, cuando hay cambios en la distribución; también existen mecanismos mixtos. Las trombocitopenias periféricas ponen en marcha una serie de respuestas compensadoras, especialmente aumento del volumen plaquetario y producción de citocinas estimuladoras de la trombocitopoyesis[3]. Como resultado, la médula ósea envía un mayor número de plaquetas a la sangre, lo cual conlleva una alta proporción de elementos jóvenes circulantes, de mayor tamaño y capacidad funcional. Las plaquetas jóvenes, o plaquetas reticuladas, pueden ser reconocidas por su alto contenido en RNA. Las respuestas compensadoras contrarrestan, hasta cierto punto, la trombocitopenia inicial aunque, en general, no son suficientes para recuperar las cifras normales de plaquetas.

Etiología y fisiopatología de las trombocitopatías

Entre los factores etiológicos de las trombocitopatías destacan los de tipo genético y, entre los adquiridos, algunas enfermedades crónicas, como hepatopatía e insuficiencia renal, fármacos y el contacto con agentes físicos y químicos. Las disfunciones plaquetarias pueden afectar a diferentes aspectos de la actividad plaquetaria, fundamentalmente adhesión, agregación y secreción, dando lugar a diferentes mecanismos fisiopatológicos, a veces asociados.

Clasificación general de las trombocitopenias y trombocitopatías

Combinando criterios etiológicos y fisiopatológicos tanto las trombocitopenias como las trombocitopatías se clasifican en adquiridas y genéticas o constitucionales (tablas 34.1 y 34.2). Este tipo de clasificación constituye una guía de gran utilidad para la práctica clínica, especialmente para el diagnóstico y la orientación terapéutica[1].

APROXIMACIÓN CLÍNICA Y ANALÍTICA AL PACIENTE CON TROMBOCITOPENIA O TROMBOCITOPATÍA

La clínica propia de la trombocitopenia o trombocitopatía es un síndrome hemorrágico típico de los déficit de la hemostasia primaria, de predominio cutaneomucoso con púrpura, hemorragias mucosas y sangrado provocado por intervenciones o traumatismos. El hallazgo de la trombocitopenia o trombocitopatía se produce en el contexto del estudio de las diátesis hemorrágicas, tratadas en el Capítulo 33, después de valorar el patrón hemorrágico y descartar alteraciones de la coagulación. Con cierta frecuencia, sin embargo, también se detecta trombocitopenia sin diátesis hemorrágica aparente. En cualquier caso, el diagnóstico de la causa y mecanismo patogénico de la patología plaquetaria requiere la aplicación de sistemáticas clinicobiológicas específicas[4].

Protocolo diagnóstico clinicobiológico de la trombocitopenia

Los objetivos del protocolo consisten en averiguar la etiopatogenia de la trombocitopenia, establecer si está asociada con otros procesos y determinar si existe o no diátesis hemorrágica y el grado de la misma. En cada fase del protocolo se aplica una serie de pruebas complementarias que, al avanzar en el mismo, van siendo cada vez más complejas y especializadas.

Evaluación clínica y pruebas complementarias iniciales

Tras la comprobación de que la trombocitopenia es real y no un resultado de laboratorio erróneo o pasajero, el protocolo comienza con una **anamnesis** y **exploración** minuciosas, haciendo una valoración especial de algunos aspectos:

1. Manifestaciones clínicas, si las hubo, que motivaron la analítica.
2. Antecedentes personales relacionados con sustancias tóxicas (laborales, enolismo), medicamentos, posibles infecciones (viajes, riesgo para el sida), o deficiencias nutricionales.
3. Antecedentes hemorrágicos, a veces no valorados por el paciente, como hipermenorrea o equimosis ante mínimos traumatismos; hay que interrogar detalladamente sobre todos los tipos de sangrado y sobre episodios de púrpura.
4. Anamnesis por sistemas, especialmente sobre entidades con posibilidad de cursar con trombocitopenia: hepatopatía, nefropatía, hemopatía, infecciones recientes (principalmente víricas o vacunaciones); asimismo, alteraciones descritas en asociación con patología plaquetaria genética: hipoacusia, cataratas, albinismo, malformaciones, etc.
5. Antecedentes quirúrgicos con probable relación con la trombocitopenia: intervenciones cardiovasculares, esplenectomía, etc.
6. Historia familiar, incluyendo antecedentes de consanguinidad.
7. A la exploración, al margen de la valoración general por sistemas, detección de signos cutáneos de diátesis hemorrágica y de esplenomegalia.

Entre las **pruebas complementarias iniciales** es obligado practicar un hemograma completo, con examen del frotis al microscopio. Esta observación permitirá efectuar un recuento microscópico de plaquetas, así como analizar su morfología y la potencial formación de agregados plaquetarios. Entre otras analíticas también hay que efectuar pruebas de coagulación, bioquímicas, metabolismo del hierro, factores de maduración, serologías víricas y una batería de autoanticuerpos inespecíficos, incluyendo antinucleares, anticardiolipina,

TABLA 34.1

Patología plaquetaria adquirida. Clasificación

Trombocitopenias periféricas		
Inmunes	Autoinmunes	Púrpura trombocitopénica autoinmune: primaria, asociada; del adulto, del niño
		Trombocitopenia inmune inducida por fármacos: generales, heparina
		Trombocitopenia cíclica periférica
		Seudotrombocitopenia
		Síndrome antifosfolípido
	Aloinmunes	Trombocitopenia fetal/neonatal aloinmune
		Trombocitopenia postransfusional
		Refractariedad a las transfusiones de plaquetas
		Trombocitopenia aloinmune pasiva
No inmunes	Por hiperconsumo	Coagulación intravascular diseminada
		Microangiopatía trombótica
	Por otras causas	Hiperdestrucción no inmune
		Pérdida al exterior o hemodilución
		Hiperfunción del sistema mononuclear fagocítico
Trombocitopenias por distribución anormal		
Por secuestro		En el bazo
		En otros lugares
Trombocitopenias centrales		
Por afectación global de la hematopoyesis	Supresión o hipoplasia	Aplasia medular
		Hemopatías malignas
		Otras lesiones medulares
	Hematopoyesis ineficaz	Síndromes mielodisplásicos
		Déficit de factores de maduración
Por afectación megacariocítica aislada o predominante		Púrpura trombocitopénica amegacariocítica adquirida
		Trombocitopenia cíclica central
		Trombocitopenia refractaria
		Miscelánea
Trombocitopatías		
Asociada a hepatopatía		
Asociada a insuficiencia renal		
Asociada a otras situaciones clínicas		
Inducida por fármacos y otras substancias		

antitiroideos, etc. Con la interpretación de los resultados iniciales ya se obtienen algunos diagnósticos: seudotrombocitopenia, proceso hematológico, trombocitopenia por consumo, hepatopatía, nefropatía, patología plaquetaria genética, etc. De lo contrario, hay que avanzar en el estudio.

Pruebas complementarias de la segunda y tercera fase

Las pruebas de la **segunda fase** incluyen la determinación de los anticuerpos antiplaquetarios (AAP)[5] y la práctica de una ecografía abdominal. Asimismo, si se ha observado discordancia entre las manifestaciones hemorrágicas y las cifras de plaquetas, sugestiva de un componente trombocitopático, hay que explorar la función plaquetaria global. Los resultados de estas pruebas pueden indicar que existe una trombocitopenia autoinmune, caso de que los AAP sean positivos, o un hiperesplenismo, si se ha observado esplenomegalia en la ecografía. Por otra parte, se puede tener una valoración objetiva de una potencial diátesis hemorrágica sugestiva de trombocitopatía. Cuando estos resultados sean negativos, se pasará a la fase siguiente.

Las pruebas de la **tercera fase** sirven para explorar la trombocitopoyesis, mediante un examen de la médula ósea –con cariotipo si el paciente es mayor de 60 años–, y la supervivencia plaquetaria, mediante un estudio cinético con plaque-

TABLA 34.2

Patología plaquetaria genética. Clasificación

Macrotrombocitopenias sin diátesis hemorrágica valorable	Enfermedad del gen MYH9 Macrotrombocitopenia asociada a síndrome velocardiofacial Otras macrotrombocitopenias asociadas Macrotrombocitopenias aisladas
Patología de la adhesión y agregación	Síndrome de Bernard-Soulier Seudo-Von Willebrand Tromboastenia de Glanzmann Anomalías de los receptores del colágeno
Anomalías de la actividad procoagulante	Síndrome de Scott Síndrome de Stormorken
Anomalías de la secreción y la activación: patología de los gránulos densos y α	Déficit selectivo de gránulos densos Síndrome de Hermansky-Pudlak Síndrome de Chediak-Higashi Síndrome de las plaquetas grises Déficit parcial de gránulos α Síndrome de Quebec Otros déficit de componentes de los gránulos α Déficit mixto de gránulos densos y α
Anomalías de la secreción y la activación: déficit de secreción primario	Anomalías de los receptores para el ADP, epinefrina, tromboxano Anomalías de las proteínas G Anomalías de la vía de los inositoles y del metabolismo del calcio Anomalías de la vía del ácido araquidónico
Patología de la trombocitopoyesis	Trombocitopenia asociada a aplasia del radio Otras trombocitopenias centrales con anomalías del radio Trombocitopenia amegacariocítica congénita Trombocitopenias dismegacariocitopoyéticas Déficit de factores estimuladores de la megacariocitopoyesis Aplasia de Fanconi Otras aplasias constitucionales
Anomalías complejas e inclasificables	Síndrome de Wiskott-Aldrich Síndrome de Montreal Trombocitopatía de la AGel amiloidosis Trombocitopenias con predisposición a la leucemia mieloblástica Miscelánea
Patologías secundarias a anomalías congénitas de otros sistemas	Síndrome de Kasabach-Merritt Enfermedad de von Willebrand tipo 2B y tipo *platelet-discordant* Enfermedades del sistema mononuclear-fagocítico Miscelánea

tas marcadas. El estudio medular puede demostrar la existencia de una hemopatía primaria, una trombocitopenia amegacariocítica o una alteración del SMF, entre otros procesos. Por otra parte, si la supervivencia plaquetaria está muy acortada sugiere una trombocitopenia autoinmune, o bien, si las plaquetas retenidas en el bazo son excesivas indica hiperesplenismo. Con los resultados de estos estudios puede llegarse al diagnóstico en el 90% de pacientes, sumando los diagnósticos alcanzados en las fases previas.

Modificaciones del protocolo

Aunque las fases se han descrito totalmente separadas, en algunas circunstancias es conveniente efectuar alguna modificación cronológica del protocolo. Así, cuando la trombocitopenia o la diátesis hemorrágica son muy marcadas, se aconseja adelantar al estudio inicial la determinación de los AAP y la ecografía e, incluso, el examen de la médula ósea, principalmente si el paciente es de edad avanzada. Por otra parte, en las trombocitopenias muy leves, no se considera necesario llevar a cabo la tercera fase del estudio, y es preferible seguir la evolución del proceso mediante controles periódicos.

Después de cada diagnóstico obtenido, el paciente debe seguir los controles y pruebas específicas correspondientes, tanto si se trata de un problema propiamente plaquetario, como si la trombocitopenia es secundaria a otro tipo de patología.

Aspectos clínicos y diagnósticos de las trombocitopatías

La manifestación clínica de la trombocitopatía o disfunción plaquetaria es la **diátesis hemorrágica**. Ésta puede aparecer en mayor o menor grado e incluso pasar inadvertida, pero la alteración siempre es evidenciable mediante el análisis de la función plaquetaria[6]. Con frecuencia, existen también rasgos clínicos del proceso patológico o antecedentes del fármaco causantes de la trombocitopatía.

Para efectuar el **diagnóstico** se sigue un procedimiento parecido a la primera fase del «Protocolo diagnóstico clinicobiológico de las trombocitopenias», descrito en el apartado anterior. En este caso, se valoran específicamente los siguientes **aspectos clínicos**:

1. Tipo y grado de diátesis hemorrágica, mediante la historia clínica y la exploración física.
2. Patologías con especial predisposición a la trombocitopatía, como hepatopatía, insuficiencia renal, hemopatías mieloides y disproteinemias.
3. Antecedentes de cirugía cardiovascular o diálisis.
4. Antecedentes farmacológicos.
5. Contacto con agentes físicos o químicos.

Tras la valoración clínica, se llevarán a cabo **pruebas de laboratorio** que incluyan recuento de plaquetas y análisis básico de la función plaquetaria. La detección de una disfunción plaquetaria en ausencia de trombocitopenia, o con trombocitopenia poco marcada, establece el diagnóstico de trombocitopatía. Los restantes datos clínicos y analíticos orientan hacia la causa de la misma y, si es preciso, se aplican pruebas específicas para determinar la alteración plaquetaria concreta responsable de la disfunción.

Técnicas generales de laboratorio

Recuentos de plaquetas y morfología plaquetaria al microscopio

La mayoría de los **autoanalizadores hematológicos** permiten obtener, además del número de plaquetas, el volumen plaquetario medio (VPM), su amplitud de distribución (PDW) y el plaquetócrito (PCT), que representa la masa plaquetaria total[1,7]. Habitualmente las plaquetas son contadas conjuntamente con los hematíes, separándose luego, por diversos métodos, las dos poblaciones celulares. El sistema de abertura-impedancia, el más habitual, distingue las plaquetas por su menor volumen y distribución log normal, y el sistema de difracción óptica lo hace combinando el tamaño celular con el índice de refracción. Las cifras normales para los parámetros plaquetarios son: número de plaquetas 150-380 $\times$ 10^9/L, VPM 6,5-10,5 fL, PCT 0,100-0,450% y PDW 15-19, para el sistema de abertura-impedancia (desviación estándar geométrica de los volúmenes plaquetarios), y 39-53 para el de difracción óptica (coeficiente de variación simple). Entre el número de plaquetas y el VPM existe una correlación inversa y no lineal. Además, se considera que en el sexo femenino y en los niños las cifras de plaquetas son algo superiores, y los VPM, proporcionalmente inferiores[1,7].

Los recuentos automáticos no siempre representan las cifras de plaquetas reales. En primer lugar, por el efecto de los anticoagulantes; el EDTA-K_3, y en menor proporción el citrato sódico, producen un cambio de forma progresivo de las plaquetas por el cual éstas tienden a redondearse y aumentar de volumen[8]. Este cambio se estabiliza entre las 2 y 6 horas de la extracción y, por tanto, éste es el período idóneo para realizar el recuento. Por otra parte, las plaquetas de tamaño aumentado y los agregados plaquetarios pueden quedar incorporados en el recuento de hematíes, e incluso en el de leucocitos, desapareciendo de la población plaquetaria y dando lugar a una falsa trombocitopenia o **seudotrombocitopenia**. También se han descrito falsas trombocitosis, cuando hay fragmentación eritrocítica, hematíes microcíticos, crioglobulinas plasmáticas o agregados de estafilococos. Para obviar estos problemas se han diseñado diversas estrategias técnicas, como identificar las plaquetas por su contenido en RNA, mediante fluorescencia, o definiendo nuevos parámetros basados en la difracción óptica.

El **recuento inmunológico por citometría de flujo** proporciona cifras mucho más cercanas a las reales[9]. Las plaquetas se marcan con un anticuerpo monoclonal específico y se cuentan en el citómetro junto con un número conocido de eritrocitos. Mediante cálculos basados en la cifra de eritrocitos del individuo, se determina la cifra de plaquetas.

Otra forma de efectuar recuentos plaquetarios bastante correctos es mediante microscopia[7,10]: *a*) **recuento de plaquetas en cámara**, empleando diluyentes apropiados (oxalato amónico, líquido de Kristensen), cámaras de recuento de hematíes (Neubauer, Thoma) y microscopia de contraste de fases, y *b*) **método de Fonio**, contando 1.000 hematíes sobre un frotis sanguíneo observado al microscopio con un ocular reticulado y, por un cálculo posterior basado en el número de hematíes, inferir el número de plaquetas.

La observación de la **morfología plaquetaria al microscopio óptico** es un complemento imprescindible para el estudio de las trombocitopenias y trombocitopatías[7]. Existen variaciones de la morfología normal (descrita en el Capítulo 1) altamente orientativas desde el punto de vista diagnóstico (fig. 34.1): *a*) formación de agregados plaquetarios; *b*) variaciones del tamaño, como anisocitosis, microcitosis y macrocitosis, incluyendo la presencia de plaquetas gigantes o megatrombocitos, de diámetro $\geq$ 4,5 µm; *c*) alteraciones en la granulación, fundamentalmente hipogranulación, y *d*) presencia de micromegacariocitos circulantes. Asimismo, tiene gran interés observar la morfología de las restantes series sanguíneas en busca de dismorfia roja microangiopática, inclusiones basófilas en los leucocitos o rasgos de mielodisplasia, entre otras alteraciones.

Análisis general de la función plaquetaria

Cuando se sospecha disfunción de las plaquetas es obligado efectuar alguna prueba de detección de la función plaquetaria[6]. Hasta hace pocos años la técnica más utilizada era el **tiempo de sangría**, que consiste en practicar una incisión *in vivo* y medir el tiempo que tarda en dejar de sangrar. En el método de Ivy la incisión se realiza en la cara anterior del antebrazo, utilizando un dispositivo automático y en condiciones estandarizadas, especialmente la presión venosa. Es importante que lo practique una persona bien entrenada y que se asegure de la ausencia de fármacos con probable efecto antiplaquetario en los últimos 10 días. Si se cumplen estas condiciones, el tiempo de sangría normal oscila entre 3 minutos y medio y 8 minutos y medio. Esta prueba es informativa sobre los trastornos de la hemostasia primaria, incluyendo plaquetas y pared vascular.

Los inconvenientes de una correcta estandarización y, sobre todo, las molestias causadas al paciente, han motivado

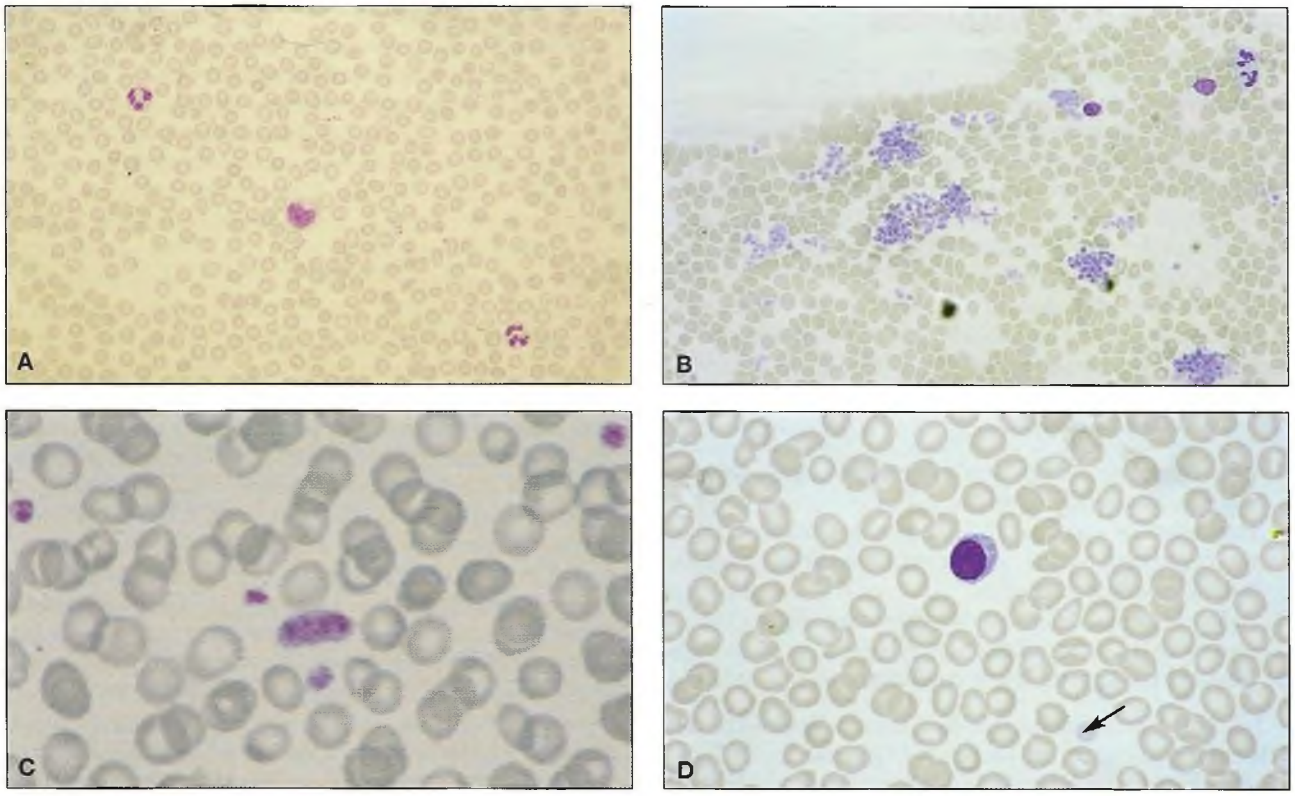


Figura 34.1. Morfología plaquetaria al microscopio óptico (May-Grünwald-Giemsa); *A*) plaquetas de morfología normal, asimismo en cantidad normal (× 400); *B*) agregados plaquetarios en una seudotrombocitopenia por aglutininas frías (× 400); *C*) plaquetas gigantes de un paciente con enfermedad del gen *MYH9* (× 1.000); *D*) plaquetas degranuladas en un síndrome de las plaquetas grises (*flecha*) (× 1.000).

el desarrollo de **técnicas *in vitro* para el análisis de la función plaquetaria**[6,11]. En este caso, no obstante, únicamente se pueden valorar las plaquetas pero no la pared vascular. Una de estas técnicas, bastante generalizada, es el PFA-100® (*Platelet functional analyzer 100*). Consiste en un instrumento que contiene una bomba de aspiración que hace circular la sangre citratada, en condiciones de altas fuerzas de cizallamiento, por un orificio efectuado en una membrana impregnada con activadores de las plaquetas: colágeno + ADP o colágeno + epinefrina. Las plaquetas circulantes van cerrando la abertura hasta que se para el flujo sanguíneo, momento que es registrado por el analizador. El tiempo transcurrido hasta la obturación de la abertura es inversamente proporcional a la capacidad funcional de las plaquetas. Los valores de referencia son: 85-120 segundos cuando se utiliza colágeno + ADP, y 110-160 segundos cuando se utiliza colágeno + epinefrina. Diversos estudios en paralelo han demostrado que la capacidad de detección de alteraciones funcionales plaquetarias y del factor Von Willebrand (FVW) es equivalente a la del tiempo de sangría[6,11]. Los cartuchos que contienen epinefrina son más sensibles para detectar insuficiencias de la secreción plaquetaria, incluyendo las debidas a la ingesta de aspirina, mientras que los cartuchos impregnados con ADP determinan mejor la existencia de enfermedad de Von Willebrand.

Técnicas bioquímicas, funcionales y morfológicas especiales

La detección de disfunción plaquetaria mediante el tiempo de sangría o el análisis del funcionalismo global *in vitro* obliga a profundizar en el diagnóstico de la alteración plaquetaria específica responsable. La agregometría y la citometría de flujo son las pruebas que se deben determinar inicialmente, y servirán de base para efectuar, si es preciso, estudios de mayor complejidad. La microscopia electrónica de transmisión aplicada a las plaquetas es un complemento esencial para el estudio de algunas alteraciones, especialmente en patología genética. Cuando la afectación plaquetaria se manifiesta como trombocitopenia, con frecuencia es preciso realizar pruebas de tipo inmunohematológico para conocer si se trata de un proceso mediado por anticuerpos. En estos casos, también es de gran utilidad el análisis de la cinética plaquetaria con plaquetas marcadas. Finalmente, el estudio de la trombocitopoyesis, tratado en el Capítulo 2, es ineludible cuando el déficit plaquetario se debe a una falta de aporte.

Agregometría

La agregometría explora la capacidad de las plaquetas para agregar entre sí tras ser activadas por una sustancia inductora o agonista[12,13]. El **método turbidométrico** de Born es uno de los más generalizados y consiste en medir la densidad óptica o transmitancia de un plasma rico en plaquetas (PRP) sometido a la acción de distintos agonistas a diferentes concentraciones. Éstos inducen la formación de agregados plaquetarios variando la cantidad de luz transmitida a través del PRP, lo cual se registra de forma gráfica para su posterior interpretación (fig. 34.2). Los resultados se expresan, para cada inductor, como porcentaje de agregación a los 5 minutos.

Los **agonistas** utilizados con mayor frecuencia, indicando concentraciones, son: ADP (0,5 – 10 µM), colágeno (1 – 10

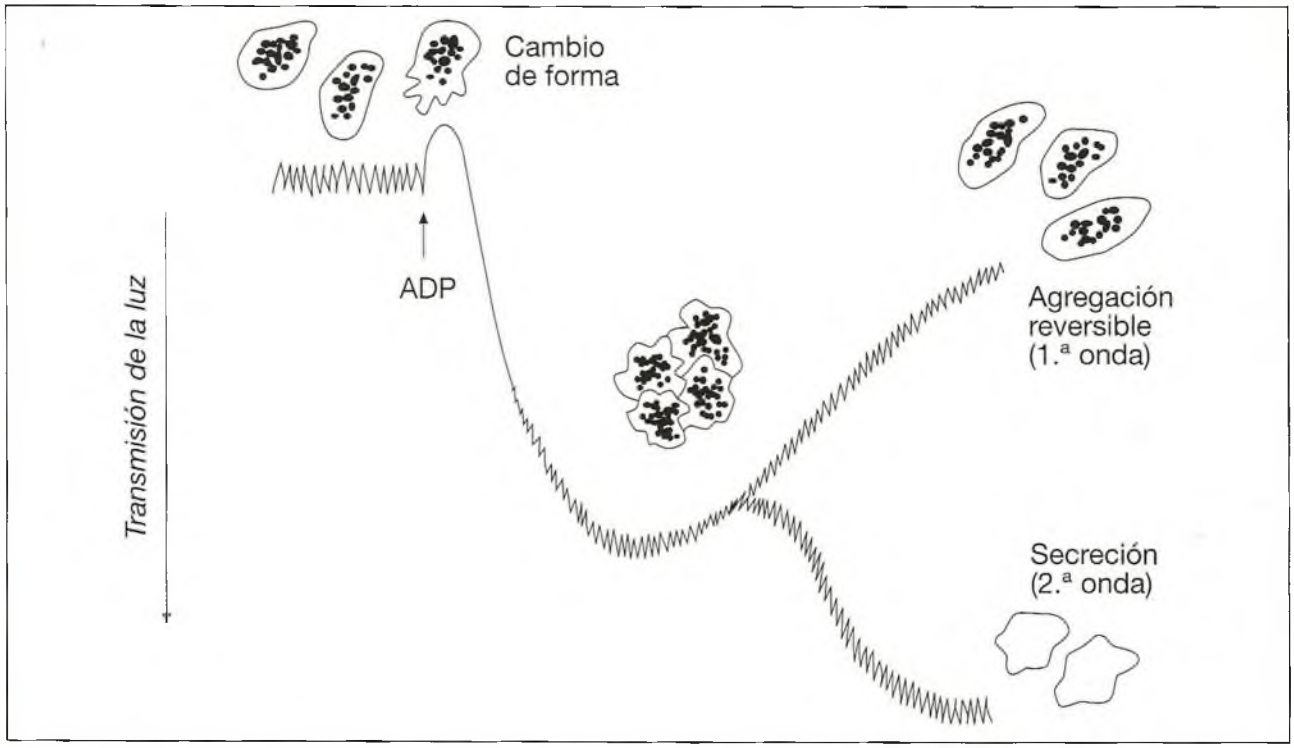


Figura 34.2. Agregación plaquetaria inducida por ADP: se representan esquemáticamente, en paralelo, las distintas fases del proceso y el registro gráfico correspondiente en el agregómetro. (Gentileza de C. de Castellarnau.)

μM), epinefrina (1 – 10 μM) y ristocetina (0,5 – 1,2 mg/mL). En situaciones especiales, se aplica también: ácido araquidónico (0,5 – 2 μM), trombina (0,1 – 0,5 U/L), ionóforo de Ca^{++} A23187 (2 – 10 μM), y análogo del tromboxano U46619 (0,1 – 5 μM). El ADP y la epinefrina producen curvas bifásicas: la primera onda corresponde al cambio de forma de las plaquetas y la segunda a la ampliación de la respuesta generada por las sustancias liberadas por las plaquetas durante la primera fase (ADP, Ca^{++}, serotonina, tromboxano) que, a su vez actúan como agonistas; en dosis bajas, se genera únicamente una primera curva reversible y, en dosis altas, ambas curvas se solapan y se obtiene una agregación irreversible. La agregación inducida por colágeno simula la función plaquetaria *in vivo*, iniciada con la adhesión de las plaquetas al subendotelio; en este caso, existe un tiempo de latencia de aproximadamente 1 minuto, antes de comenzar el ascenso de la curva. La ristocetina es un producto que reacciona aglutinando plaquetas cuando la glucoproteína (GP) Ib de éstas se une al FVW. Las deficiencias funcionales de cada tipo de trombocitopatía generan patrones agregométricos característicos (v. Capítulos 33, 35).

Citometría de flujo

La citometría de flujo consiste en hacer incidir un haz láser sobre células en suspensión y medir diversos parámetros derivados de esta acción, entre ellos dispersión frontal o *forward scatter* (FSC) y dispersión lateral o *side scatter* (SSC). El FSC es proporcional al volumen de la célula, y el SSC es un indicador de su complejidad interna. Si se marcan las células con anticuerpos monoclonales unidos a fluorocromos, éstos son excitados mediante el láser, y las señales generadas pueden analizarse con detectores apropiados. Los resultados se muestran como histogramas de intensidad de fluorescencia (fig. 34.3) o bien como gráficos de puntos en los que cada punto es una célula. La citometría de flujo aplicada a las plaquetas permite analizar su estructura, composición bioquímica y activación[14,15].

La **metodología** actual para estudiar la citometría de flujo plaquetaria se basa en el doble marcaje de una muestra de sangre total: un anticuerpo monoclonal específico unido a un fluorocromo sirve para seleccionar la población plaquetaria, y un segundo anticuerpo, unido a un fluorocromo diferente, sirve para marcar el antígeno problema. Existen distintos aspectos técnicos a tener en cuenta, como temperatura, fijación de la muestra, tipo de anticuerpo, fluorocromo, etc.

Las **aplicaciones** de la citometría de flujo plaquetaria tienen un gran rendimiento en el estudio de las GP de membrana, la actividad procoagulante y la activación plaquetaria. En el último caso, la activación plaquetaria se identifica mediante cambios en la conformación de la GPIIb-IIIa, cambios en el Ca^{++} citosólico, y expresión en la superficie celular de determinadas moléculas, como P-selectina o LIMP (proteína de la membrana lisosómica). Otras aplicaciones de la citometría de flujo son: el recuento plaquetario inmunológico, comentado anteriormente y la cuantificación de las plaquetas reticuladas.

Métodos específicos para el estudio de diferentes funciones plaquetarias

Con las orientaciones obtenidas en las pruebas anteriores puede ser necesario confirmar el diagnóstico mediante procedimientos más complejos o especializados. Existen técnicas que analizan la **adhesividad** de las plaquetas a diferentes superficies como el cristal (actualmente en desuso), el colá-

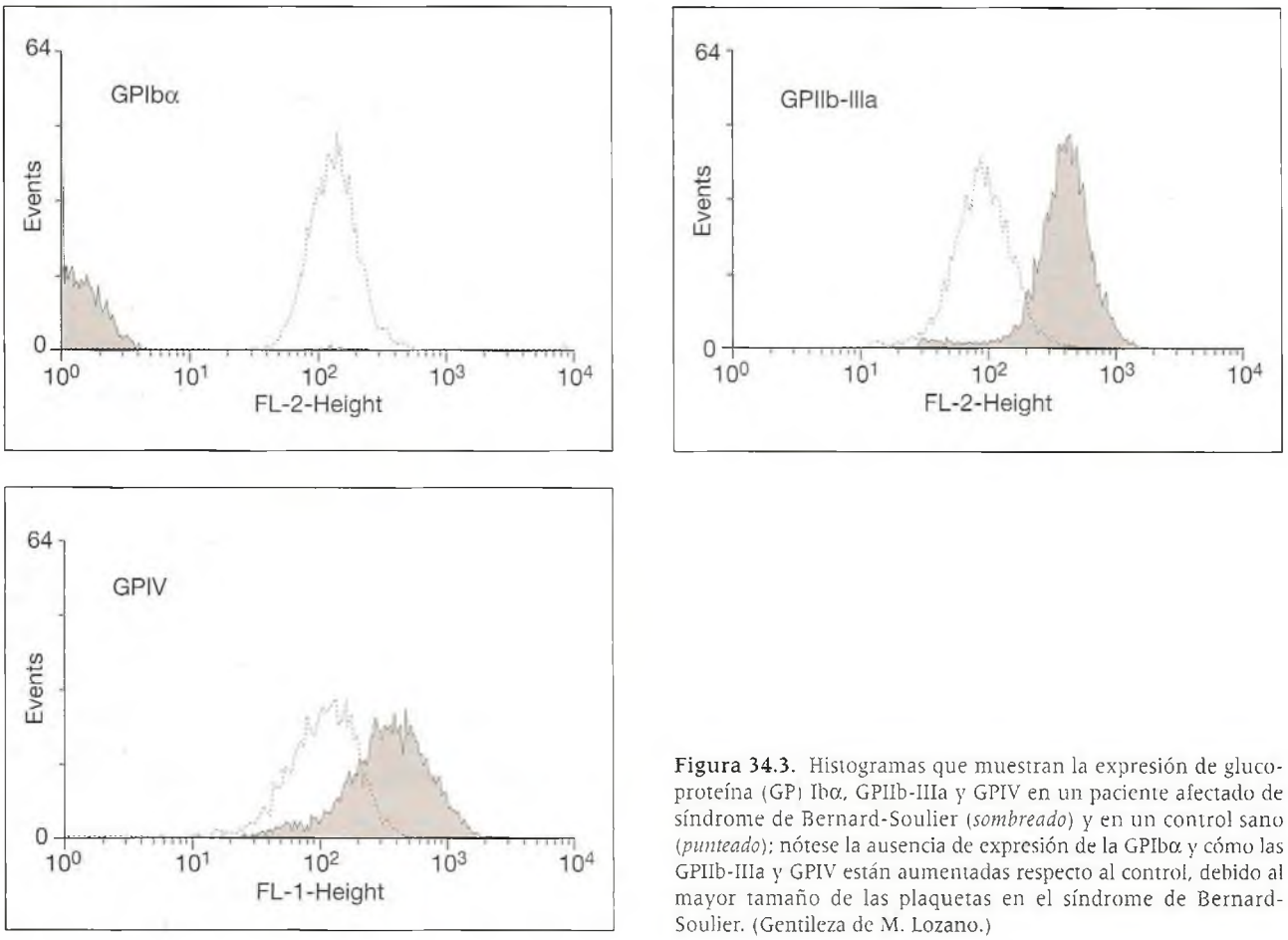


Figura 34.3. Histogramas que muestran la expresión de glucoproteína (GP) Ibα, GPIIb-IIIa y GPIV en un paciente afectado de síndrome de Bernard-Soulier (*sombreado*) y en un control sano (*punteado*); nótese la ausencia de expresión de la GPIbα y cómo las GPIIb-IIIa y GPIV están aumentadas respecto al control, debido al mayor tamaño de las plaquetas en el síndrome de Bernard-Soulier. (Gentileza de M. Lozano.)

geno o el subendotelio[16]. La interacción de las plaquetas con el colágeno se examina poniendo en contacto PRP con una superficie recubierta de colágeno. La cantidad de plaquetas adheridas se mide después por recuento o por radioisótopos. En los métodos de perfusión, como el de Baumgartner, se dispone una cámara con un eje recubierto por un segmento vascular evertido, que se expone a la sangre circulante en condiciones reológicas estandarizadas. Para medir la adhesión producida se emplean técnicas isotópicas o histológico-morfométricas.

Al margen de la citometría de flujo, que da una idea aproximada del estado de las **glucoproteínas de la membrana plaquetaria**, su caracterización exacta precisa la aplicación de electroforesis en geles de poliacrilamida, unidimensionales o bidimensionales, técnicas inmunológicas mediante isótopos o ELISA (análisis de inmunoabsorción ligado a enzimas) o combinaciones de las anteriores como *western-blotting* o inmunoelectroforesis cruzada[16].

La **actividad procoagulante** o factor plaquetario 3 de las plaquetas puede estudiarse mediante pruebas coagulométricas, como el consumo de protrombina, o por sustratos cromogénicos en el ensayo de la actividad protrombinasa. En los últimos años se han desarrollado técnicas de citometría de flujo que permiten evaluar esta actividad de forma indirecta mediante la demostración de cambios en los fosfolípidos de membrana o la detección de factor V activado sobre las plaquetas[16,17].

La activación y secreción plaquetarias, procesos muy relacionados entre sí, se estudian mediante diferentes metodologías *in vitro*. La **capacidad de secreción de los gránulos densos** se valora a través de la liberación de sus adenín-nucleótidos, fundamentalmente ATP, por lumiagregometría o por la incorporación y liberación de serotonina marcada con ^{14}C[18].

La **liberación del contenido de los gránulos** α se evalúa con la estimación de algunas de sus proteínas específicas en plasma o suero, como β-tromboglobulina, factor plaquetario 4 o PDGF (factor de crecimiento derivado de las plaquetas). Las proteínas se cuantifican mediante radioinmunoanálisis (RIA) o ELISA[18].

La determinación del Ca^{++} intraplaquetario tiene gran interés para el **estudio de la activación**, ya que es un factor central en todas las vías de transducción[18]. La técnica se basa en el uso de compuestos fluorescentes, los cuales atraviesan la membrana plaquetaria, son hidrolizados y se combinan con el Ca^{++} libre. Como resultado, aumenta la fluorescencia, que puede medirse por fluorimetría o por citometría de flujo. El metabolismo del ácido araquidónico también es fundamental para la activación plaquetaria, y puede analizarse indirectamente mediante la producción de tromboxano B_2 por técnicas de RIA, cromatografía líquida de alta presión (HPLC) o cromatografía en capa fina.

Microscopia electrónica de transmisión

El alto poder de resolución del microscopio electrónico y la aplicación de una **metodología** adecuada, que evite la activación de las plaquetas y al mismo tiempo preserve todas las estructuras intraplaquetarias, constituye una herramienta fun-

damental para diagnosticar alteraciones de la estructura plaquetaria. El método óptimo consiste en fijar inmediatamente la muestra sanguínea, extraída sin anticoagulante, usando una solución tampón específica, y llevando a cabo la evaluación cuantitativa de un gran número de secciones plaquetarias mediante técnicas morfométricas[19,20].

Los principales **parámetros de la estructura plaquetaria** que se deben valorar son: área, perímetro, diámetros máximo y mínimo e índices de forma, calculados mediante fórmulas matemáticas, indicativos del estado de la forma discoide. En cuanto a las estructuras intraplaquetarias, es posible evaluar, entre otros elementos celulares inespecíficos, los gránulos α y densos, el sistema canalicular abierto (SCA) y el sistema tubular denso (STD).

La morfología ultraestructural puede complementarse con **técnicas citoquímicas** e **inmunocitoquímicas** (v. Capítulo 2). Entre las primeras, destacan la peroxidasa plaquetaria, cuya positividad se localiza en el STD, y la fosfatasa ácida, específica de los lisosomas. La inmunocitoquímica ultraestructural, de gran interés para la investigación, tiene pocas aplicaciones prácticas en el diagnóstico de la patología plaquetaria.

La **semiología** de las plaquetas al microscopio electrónico de transmisión aporta valiosas referencias para el diagnóstico de algunas patologías, especialmente de tipo genético (fig. 34.4). Entre los rasgos apreciables, las alteraciones de los gránulos desempeñan un papel destacado, no sólo en el aspecto cuantitativo sino también por la presentación de formas anómalas, como disminución de la electrondensidad en los gránulos densos o presencia de gránulos α gigantes. La formación de complejos de SCA, de STD, o mixtos, es otra alteración característica de algunos procesos. Asimismo, pueden observarse señales morfológicas sugestivas de activación plaquetaria *in vivo*, como disminución de la forma discoide, emisión de seudópodos o centralización de los gránulos.

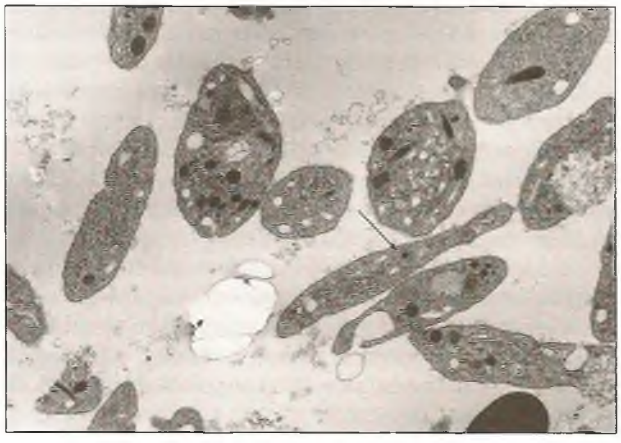


Figura 34.4. Morfología plaquetaria al microscopio electrónico de transmisión (15.000 ×); grupo de plaquetas de un paciente con déficit parcial de gránulos α y densos; comparando con la morfología ultraestructural de las plaquetas normales (Figura 33.2) se observa disminución variable de los gránulos α y escasos gránulos densos (*flecha*) que, además, muestran escasa electrondensidad.

Técnicas inmunohematológicas

La puesta a punto de nuevas técnicas de investigación de anticuerpos antiplaquetarios diseñadas sobre la base de los principios del ELISA y de la fase sólida ha supuesto un avance muy importante en nuestra habilidad para efectuar el diagnóstico inmunológico de los diferentes síndromes autoinmunes y aloinmunes plaquetarios. La incorporación adicional de las técnicas de biología molecular para la tipificación de los antígenos plaquetarios específicos ha dado un nuevo impulso, permitiendo completar el diagnóstico de las principales complicaciones aloinmunes plaquetarias que exige la detección del aloanticuerpo responsable, unida a la tipificación del correspondiente antígeno implicado. A continuación, se describen las principales técnicas de investigación de anticuerpos antiplaquetarios y de tipificación de los antígenos HPA.

Técnicas de detección de anticuerpos plaquetarios

Las técnicas de detección de anticuerpos se basan en la valoración de alguna de las consecuencias de la interacción antígeno-anticuerpo (alteración de funciones plaquetarias, activación del complemento, aglutinación) o en la detección de las inmunoglobulinas (Ig) fijadas a la membrana plaquetaria. Las técnicas basadas en la alteración funcional de las plaquetas han caído en desuso, dada la existencia de numerosos factores no inmunológicos que pueden ser la causa de dicha alteración. Tampoco son adecuadas las que tienen como base la activación del complemento dado que la mayoría de anticuerpos no lo fijan. En cuanto a las técnicas de aglutinación, son poco sensibles y sólo detectan anticuerpos de naturaleza IgM. La detección de Ig unidas a la membrana plaquetaria puede realizarse utilizando plaquetas enteras o lisados plaquetarios. La clásica prueba de la antiglobulina no puede aplicarse a plaquetas conservadas en su estado natural, por la tendencia que presentan éstas a agregar espontáneamente, en especial, después de haber sido lavadas. Para soslayar este inconveniente se utilizan antiglobulinas marcadas con fluorocromos, con enzimas que inducen cambios de color o con isótopos radiactivos. La obtención de falsos resultados positivos, causada por la presencia de receptores para el fragmento Fc de las Ig en la membrana plaquetaria, puede evitarse con la utilización de antiglobulinas sin el fragmento Fc o modificando la configuración de la membrana.

La aplicación de técnicas que se basan en la utilización de plaquetas solubilizadas, como radioinmunoprecipitación, *immunoblot* y de captura del antígeno, proporcionan una información más específica acerca de la localización de un determinado antígeno en la estructura de la membrana plaquetaria y permiten la detección simultánea de mezclas de anticuerpos. La lisis de las plaquetas puede inducirse antes o después de su incubación con la muestra del suero sometido a estudio.

Investigación de aloanticuerpos antiplaquetarios

Las dificultades que plantea la detección de algunos aloanticuerpos plaquetarios específicos que requieren técnicas altamente sensibles para ponerlos de manifiesto hace recomendable la utilización de un mínimo de dos técnicas que cubran todo el espectro de posibles aloanticuerpos con capacidad para desencadenar una complicación aloinmune. Una de ellas sigue siendo la técnica de inmunofluorescencia indirecta, consagrada como la técnica de elección para el cribado básico, junto con una técnica más sensible, como las basadas en el ELISA y en la fase sólida, o bien en una combinación de ambas, como la técnica de MAIPA (inmovilización de antígenos plaquetarios por anticuerpos monoclonales específicos)[5].

Técnica de inmunofluorescencia indirecta. Permite la detección de los aloanticuerpos fijados a la membrana de unas plaquetas control con la ayuda de una antiglobulina humana fluorescente. El tratamiento previo de las plaquetas con paraformaldehído (PFA) disminuye la fijación inespecífica de agregados de IgG o inmunocomplejos, y facilita la expulsión de las Ig intraplaquetarias, evitándose así la fluorescencia inespecífica[21]. La lectura de los resultados se realiza en un microscopio de fluorescencia o por citometría de flujo. Para obtener un resultado positivo, se necesita un mínimo de unas 1.000 moléculas de Ig fijadas por plaqueta. Esta técnica permite la identificación de IgG, IgM e IgA mediante antiglobulinas monoespecíficas.

ELISA. En 1977 fue descrita por vez primera la utilización de antiglobulina marcada con peroxidasa para detectar anticuerpos antiplaquetarios. Las plaquetas control, previamente sensibilizadas con el suero problema, se incuban, en microplacas, con la antiglobulina marcada. Posteriormente, se les añade el sustrato necesario para inducir la reacción de color, que se cuantifica mediante análisis espectofotométrico. La principal desventaja estriba en la facilidad que tienen las IgG séricas para adherirse al plástico de las microplacas, lo cual puede ser causa de falsos resultados positivos[22].

Fase sólida. Las plaquetas fijadas a los pocillos de una microplaca se incuban con el suero sometido a estudio. A continuación, y después de varios lavados, se añade una suspensión de hematíes recubiertos con anti-IgG. Si el suero contiene un anticuerpo, los hematíes se unirán a las plaquetas sensibilizadas mediante el fragmento Fab_2 de la IgG que los recubre, quedando así repartidos por toda la superficie del pocillo. En caso contrario, los hematíes se concentrarán en el fondo del mismo. El uso de una solución de baja fuerza iónica en la fase de sensibilización permite acortar el tiempo de realización del estudio[23].

MAIPA. En la técnica de MAIPA las plaquetas se mezclan con el suero a estudiar y con anticuerpos monoclonales específicos para las distintas GP de la membrana plaquetaria. El sobrenadante obtenido a partir de las plaquetas solubilizadas se deposita en una microplaca previamente recubierta con antiglobulina de ratón. Si en el suero problema hay anticuerpos, el sobrenadante contendrá inmunocomplejos formados por la unión del anticuerpo monoclonal a su GP específica, sobre la cual también se habrá fijado el anticuerpo problema. Estos inmunocomplejos se unirán, a través del anticuerpo monoclonal, al fragmento Fab de la antiglobulina de ratón fijada al pocillo de la microplaca. Entonces, el anticuerpo problema es detectado tras la adición de una antiglobulina humana marcada con fosfatasa alcalina o peroxidasa y del sustrato de color correspondiente. Esta técnica es más sensible que la inmunofluorescencia, el ELISA o la fase sólida, y permite definir, simultáneamente, la especificidad del anticuerpo detectado y la de la GP en la cual se localiza el antígeno. La presencia de anticuerpos HLA no interfiere en el resultado, y el empleo de varios anticuerpos monoclonales permite la identificación de diversas especificidades presentes en un mismo suero, sin necesidad de realizar adsorciones diferenciales. El principal inconveniente radica en la necesidad de utilizar un amplio panel de anticuerpos monoclonales dirigidos contra todas las GP cuando se estudian sueros desconocidos[24].

Detección de anticuerpos antiplaquetarios específicos en presencia de anticuerpos anti-HLA. En el diagnóstico de la trombocitopenia neonatal aloinmune y de la púrpura postransfusional, es fundamental identificar los aloanticuerpos responsables y definir su especificidad. A menudo su detección es difícil, por la presencia, en los sueros estudiados, de potentes anticuerpos HLA de clase I. Este problema se resuelve parcialmente tratando las plaquetas con cloroquina[25]. Sin embargo, algunos epítopes específicos pueden alterarse provocando que anticuerpos habitualmente débiles puedan pasar desapercibidos. Un método alternativo para eliminar los antígenos HLA de la membrana plaquetaria es el tratamiento con ácido cítrico[26]. No obstante, la mejor alternativa actual, aunque más laboriosa, es la técnica de MAIPA, que soslaya la presencia simultánea de ambos tipos de anticuerpos, a la par que los pone en evidencia.

Investigación de autoanticuerpos plaquetarios

Prueba de inmunofluorescencia directa e indirecta. Es una técnica sencilla, comparable a la descrita para la identificación de aloanticuerpos, que consiste en evidenciar la presencia de autoanticuerpos en la membrana de las plaquetas del paciente –prueba directa– mediante una antiglobulina humana fluorescente. Para poder precisar si las Ig detectadas en la membrana plaquetaria corresponden, en realidad, a autoanticuerpos se requiere, desde el punto de vista inmunológico, poder eluir (separar) el supuesto anticuerpo de la membrana plaquetaria y reproducir su capacidad de reacción con las plaquetas de otros individuos. La técnica de inmunofluorescencia para plaquetas ideada por Von der Borne[21] permite aplicar este concepto y aporta, como ventaja adicional respecto a otros métodos, el tratamiento de las plaquetas con PFA. La técnica consta de una prueba directa, en la cual se examina la presencia de Ig fijadas a la membrana plaquetaria del paciente, y de una prueba indirecta que estudia la reactividad del suero del paciente (autoanticuerpo libre) y la del eluido sobre plaquetas normales. La reactividad del eluido es fundamental para confirmar que las Ig fijadas a las plaquetas del paciente, detectadas en la prueba directa, corresponden a verdaderos autoanticuerpos y no a Ig fijadas de forma inespecífica. Se aceptan como positivos los estudios en los que la prueba directa y el eluido son positivos. La presencia de autoanticuerpo libre en suero es una información adicional, pero sin valor diagnóstico cuando no se cumple el requisito anterior y, además, el estudio exclusivo del suero en una supuesta púrpura trombocitopénica autoinmune (PTAI) puede inducir a graves errores diagnósticos. Por una parte, la reactividad del suero puede obedecer a la presencia de otros anticuerpos (HLA, criptoanticuerpos, aloanticuerpos plaquetarios específicos) no relacionados con la PTAI y, por otra, en muchos pacientes el autoanticuerpo se encuentra totalmente fijado a las plaquetas, de forma que la ausencia de anticuerpo libre en suero podría inducir a un falso resultado negativo[27].

Otros métodos. Aunque la técnica de inmunofluorescencia sigue siendo la técnica de elección en la investigación de autoanticuerpos plaquetarios, en los últimos años se han descrito nuevas técnicas que se apoyan en el ELISA y en la fase sólida para mejorar su nivel de sensibilidad y, en algunos casos, de especificidad. Entre éstas destacan las llamadas técnicas de inmovilización de las GP de membrana, de las que la técnica de MAIPA es un ejemplo. Con estas técnicas es posible detec-

tar autoanticuerpos plaquetarios y, a la vez, precisar la especificidad GP de los mismos. Otros ejemplos lo constituyen la técnica de MACE (*modified antigen capture enzymed-linked immunoadsorbent assay*)[28] y la técnica de PAICA (*platelet associated IgG characterization assay*)[29]. Aunque originalmente suscitaron un enorme interés por su teórica mayor sensibilidad y especificidad, lo cierto es que su valor predictivo negativo sigue siendo muy limitado, ya que al menos en el 60% de trombocitopenias de mecanismo autoinmune siguen sin detectarse los autoanticuerpos responsables.

Técnicas para la tipificación de los antígenos plaquetarios

Hasta hace pocos años, la tipificación de los antígenos plaquetarios sólo podía realizarse con antisueros procedentes de individuos sensibilizados, ya que no se disponía de anticuerpos monoclonales específicos contra estos antígenos. El número de antisueros era limitado y la habitual presencia de anticuerpos anti-HLA en los mismos hacía muy compleja la tipificación y la interpretación de los resultados. Las técnicas habituales de estudio de los aloanticuerpos plaquetarios (inmunofluorescencia, *western blot*, inmunoprecipitación, MAIPA) constituían el soporte para realizar esta tipificación. Posteriormente han comenzado a introducirse algunos anticuerpos monoclonales (anti-HPA-1a, anti-HPA-5b) que permiten la tipificación a gran escala, pero las especificidades disponibles todavía son limitadas.

El gran avance en la tipificación de los sistemas HPA ha venido de la mano de las técnicas de **análisis del genotipo HPA mediante técnicas de biología molecular**.

La caracterización molecular de los antígenos plaquetarios ha revelado que la mayoría de los aloantígenos descritos hasta el momento se han originado como sustituciones de un único nucleótido, comportando a su vez el cambio de un aminoácido. Recientemente, se han desarrollado muchas técnicas para la detección de variantes alélicas que se diferencian en un único nucleótido. Asimismo, la posibilidad de determinar el genotipo HPA fetal a partir de muestras de líquido amniótico ofrece importantes perspectivas para el diagnóstico y prevención de la trombocitopenia neonatal aloinmune[30]. Existen diversas aproximaciones para la determinación del genotipo HPA, todas ellas basadas en la técnica de PCR: PCR-ASRA (PCR-*allele specific restriction analysis*) y PCR-SSP (PCR-*sequence specific primers*). Actualmente la PCR-SSP se ha impuesto sobre la primera por su mayor sencillez y rapidez, aunque otra técnica más recientemente desarrollada –discriminación alélica mediante PCR con sondas fluorigénicas– nos descubre nuevas perspectivas en la tipificación de antígenos plaquetarios a gran escala.

PCR-ASRA. La mayoría de las sustituciones nucleotídicas que determinan los aloantígenos plaquetarios comportan la aparición o la pérdida de secuencias de reconocimiento específicas para determinadas enzimas de restricción. Esta circunstancia ha permitido aplicar la técnica de PCR-ASRA al genotipaje HPA. De forma esquemática, la técnica consta de tres etapas: a) extracción del DNA genómico a partir de una muestra, por ejemplo de sangre o de líquido amniótico[31]; *b*) amplificación por PCR del fragmento genómico que contiene la posición polimórfica a analizar, y c) análisis del producto amplificado por digestión con una endonucleasa de restricción específica. Así, por ejemplo, para el sistema HPA-1 la enzima utilizada es *MspI*, cuya secuencia de reconocimiento es CCGG. Dicha secuencia no se encuentra en los individuos portadores del alelo HPA-1a, mientras que, debido a la mutación responsable del dimorfismo de este sistema, la diana es reconocida por la enzima de restricción en los individuos HPA-1b positivos. De este modo, combinando la PCR con el análisis de restricción, es posible detectar las variantes alélicas en función de los diferentes patrones de digestión con esta enzima.

PCR-SSP. Esta técnica permite distinguir de forma directa entre variantes alélicas de un mismo sistema. Esta aproximación requiere el uso de cebadores diseñados de tal forma que su extremo 3' se corresponda específicamente con una secuencia alélica concreta. En condiciones apropiadas, un *mismatch* en este extremo del cebador inhibe la amplificación. La técnica requiere, pues, una batería de cebadores que cubra las diferentes variantes alélicas de cada sistema. De esta forma, la obtención o no de producto de amplificación con una determinada combinación de cebadores establecerá la especificidad HPA de una muestra dada. La aplicación de esta técnica ha facilitado notablemente la determinación del genotipo HPA[32], especialmente desde el desarrollo de protocolos que permiten tipificar varios sistemas bajo las mismas condiciones de amplificación[33]. Por esta razón, la PCR-SSP se ha implantado en muchos laboratorios como técnica de preferencia para el genotipaje HPA.

Discriminación alélica mediante PCR con sondas fluorigénicas. Esta ingeniosa aproximación, recientemente desarrollada, se basa en la utilización de sondas aleloespecíficas marcadas con un fluorocromo (*reporter*) en su extremo 5'. La técnica consiste en amplificar mediante PCR un fragmento que incluya el polimorfismo que se quiere analizar, añadiendo a la reacción las sondas marcadas. Para la discriminación entre las dos variantes alélicas de un mismo sistema HPA, se utilizan dos sondas (cada una de ellas complementaria al alelo correspondiente) marcadas con fluorocromos distintos. Estas sondas están marcadas también en su extremo 3' con una molécula (*quencher*), que apantalla la fluorescencia emitida por el fluorocromo conjugado, mientras la sonda está intacta. Durante la amplificación, la actividad 5' exonucleasa de la Taq DNA-polimerasa degrada las sondas que hayan hibridado con su secuencia complementaria, liberando así el *reporter* correspondiente. Cuando esto ocurre, se registra un aumento de la emisión de fluorescencia, que es proporcional a la cantidad de producto amplificado. Por otro lado, la sonda sólo se degrada si la secuencia alélica complementaria está siendo amplificada. Esta aproximación permite utilizar un único tubo de reacción para determinar los dos alelos de un mismo sistema HPA. Además, los resultados se leen de forma automática inmediatamente después de la reacción de PCR, obviando así la necesidad de procesamiento postamplificación. Estas ventajas la convierten en una técnica muy adecuada para un cribado a gran escala[34].

Cinética plaquetaria

El estudio de la cinética plaquetaria es un método diagnóstico que consiste en la medición de la radiactividad ligada a las plaquetas tras haberlas marcado con un radionúclido,

generalmente indio-111 (^{111}In)[35,36]. La radiactividad se mide inmediatamente tras la reinyección de las plaquetas marcadas y en una serie de días sucesivos, hasta que éstas han desaparecido de la circulación. Estas mediciones, después de complejos cálculos matemáticos, permiten la obtención de diversos parámetros informativos sobre la cinética de las plaquetas, y se complementan con detecciones externas que informan sobre sus lugares de destrucción. Las detecciones se efectúan sobre bazo, hígado y corazón, representando este último las plaquetas circulantes (fig. 34.5).

Los principales **parámetros cinéticos** son los siguientes:

1. **Supervivencia plaquetaria.** Los contajes de las muestras sanguíneas extraídas seriadamente son equivalentes a la velocidad de desaparición de las plaquetas marcadas y, mediante cálculos apropiados, aportan el valor de la supervivencia plaquetaria; en condiciones normales es de 8-10 días, y valores inferiores son indicativos de un aumento de la destrucción plaquetaria.
2. **Recuperación plaquetaria a tiempo 0.** Es el número de plaquetas circulantes recuperadas inmediatamente después de la reinfusión de las plaquetas marcadas, es decir, las que no han quedado retenidas en el bazo; la recuperación normal oscila entre el 60 y el 70%, y su disminución sugiere hiperesplenismo.
3. **Tasa de producción de plaquetas o *turnover*.** Expresa la tasa de producción diaria de plaquetas y representa, la actividad trombocitopoyética; se deduce a partir de la supervivencia y de la cifra de plaquetas del individuo, corregidos por la recuperación a tiempo 0; y su valor normal oscila entre 30 y 40 $\times$ 10^9 plaquetas/L/día.
4. **Curvas de actividad/tiempo.** Las detecciones externas exploran la distribución de las plaquetas marcadas a lo largo de los primeros 30-60 minutos postinfusión, y permite obtener curvas de actividad/tiempo para cada punto de detección.
5. **Índices de actividad.** Las detecciones externas también sirven para calcular índices de las actividades obtenidas en las áreas seleccionadas entre los 30 minutos y las 24 horas; son los índices o cocientes hígado/corazón, bazo/corazón e hígado/bazo, e informan sobre las áreas en las que se produce la destrucción o el secuestro plaquetarios.

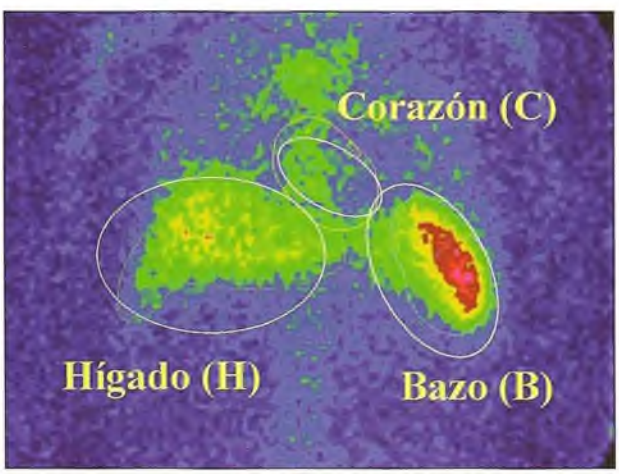


Figura 34.5. Imagen gammagráfica en la que puede verse el corazón, el hígado y el bazo; mediante las actividades, o número de cuentas, de cada región se pueden obtener los cocientes bazo/corazón (B/C) e hígado/corazón (H/C). (Gentileza de J. Mora Salvadó.)

La correcta **interpretación de los resultados** es altamente eficaz para el diagnóstico de las trombocitopenias en cuanto a definir su mecanismo patogénico[37,38]. Así, en una trombocitopenia por aumento de la destrucción, como en la de causa inmunitaria, la supervivencia está disminuida, el *turnover* es normal o aumentado y las detecciones externas indican si la destrucción se produce en el bazo y/o en el hígado (fig. 34.5). En las trombocitopenias centrales, como la hipoplasia medular, el *turnover* está claramente disminuido y la supervivencia suele ser normal; en ocasiones, como en la mielodisplasia, la disminución de la producción se asocia con cierto incremento de la destrucción y, por tanto, disminuye también la supervivencia. El patrón del hiperesplenismo consiste en una disminución de la recuperación a tiempo 0 y un aumento precoz del índice bazo-corazón.

TROMBOCITOPENIAS Y TROMBOCITOPATÍAS ADQUIRIDAS

Las plaquetas pueden sufrir diferentes tipos de patología adquirida a causa de diferentes agentes etiológicos y desarrollada mediante diversos mecanismos patogénicos (tabla 34.1). Las trombocitopenias se producen por alteración en el equilibrio normal entre aporte, pérdidas y distribución de las plaquetas. La disminución del aporte, por fallos en la trombocitopoyesis, da lugar a trombocitopenias de tipo central, tratadas en el Capítulo 14. El incremento de las pérdidas, en las trombocitopenias llamadas periféricas, puede ser debido a un aumento de su consumo, como en la coagulación intravascular diseminada o la microangiopatía trombótica, que se describen en el Capítulo 36. Las trombocitopenias periféricas también pueden ser debidas a una destrucción excesiva de plaquetas, generalmente por causas inmunes. El desequilibrio en la distribución, con aumento de la retención en el bazo, da lugar a la trombocitopenia por secuestro, expuesta en el Capítulo 41. Las trombocitopatías adquiridas, menos frecuentes que las trombocitopenias, son bastante características de algunas enfermedades, intervenciones o tratamientos farmacológicos.

Púrpura trombocitopénica autoinmune

La púrpura trombocitopénica autoinmune (PTAI), como su propio nombre indica, es un proceso que cursa con trombocitopenia, acompañada o no de diátesis hemorrágica, debido a la acción de autoanticuerpos plaquetarios que inducen la destrucción, fundamentalmente periférica, de las plaquetas en el SMF. Harrington aportó los primeros datos sugestivos de la naturaleza inmunológica del proceso al demostrar, en el plasma de los pacientes, la existencia de un factor capaz de producir trombocitopenia en los individuos sanos transfundidos con el mismo[39-41]. El calificativo idiopática o primaria se sigue acuñando para definir aquellos casos en los que la PTAI se presenta de forma totalmente aislada. En otras ocasiones, la PTAI se asocia con otro proceso con el que, generalmente, comparte una misma patogenia, en cuyo caso se denomina PTAI secundaria o asociada. La etiología, el perfil clínico y, especialmente, la evolución de la enfermedad en el adulto difieren, sensiblemente, de las del niño.

El mecanismo patogénico de la PTAI en el adulto es netamente autoinmune; a diferencia de las formas infantiles, los pacientes suelen requerir tratamiento y el proceso tiende a cronificarse. Por todo ello, se la ha denominado también PTAI crónica. No obstante, tanto desde el punto de vista de la clínica como de la evolución y el pronóstico, en los adultos también se utiliza la expresión PTAI aguda para referirse a las formas recientemente diagnosticadas y, en general, acompañadas de diátesis hemorrágica, y la de PTAI crónica para referirse a esta trombocitopenia una vez han transcurrido 6 meses desde el diagnóstico.

Etiopatogenia y fisiopatología

Factores etiológicos

Si bien no se conocen con precisión los **factores etiológicos** que precipitan la aparición de la trombocitopenia, como sucede en la mayoría de enfermedades de base autoinmune, una de las posibilidades más verosímiles es la de un factor infeccioso de naturaleza vírica[41]. Esta idea surge de la evidencia de que la PTAI puede presentarse tras una viriasis, como a menudo sucede en las formas infantiles. Las hipótesis por las que el virus podría desencadenar la producción de autoanticuerpos son varias: *a*) reactividad inmunológica cruzada entre ciertas proteínas de la membrana plaquetaria y antígenos exógenos víricos, o de otro tipo; *b*) producción de anticuerpos antiidiotipo (anti-Fab), y c) modificación de las proteínas de membrana inducida por el propio virus, con formación de nuevos antígenos.

Existen diversos **factores predisponentes** para el desarrollo de una PTAI[41]. La PTAI es más frecuente en el sexo femenino, especialmente en las mujeres jóvenes en quienes, por otra parte, también son más frecuentes los procesos autoinmunes, en general. En los ancianos esta diferencia es menos evidente y la prevalencia tiende a equipararse entre ambos sexos. La frecuencia con la que el proceso aparece en la mujer pospuberal-premenopáusica y las recaídas que, a menudo, se producen con la gestación, han hecho pensar en una posible influencia hormonal estrogénica en la patogenia de la PTAI, pero no se ha llegado a establecer esta relación de forma definitiva. También se ha observado que la expresión de los receptores Fc es superior en las mujeres que en los hombres aunque no se ha establecido el significado de este hecho. Entre los factores genéticos, en algunas series se ha observado una asociación con los antígenos HLA-B8, HLA-B12, HLA-DR2 y HLA-A28 y, en un grupo de pacientes en los que se detectaba una IgM fijada a la plaqueta, había una asociación con el fenotipo HLA-B8/DR3, aunque tales asociaciones no han sido corroboradas en otros estudios.

Mecanismo de producción de los autoanticuerpos plaquetarios

Los avances inmunológicos y bioquímicos de los últimos años han permitido conocer nuevos aspectos de la fisiopatología de la PTAI; sin embargo, el mecanismo íntimo que determina la disregulación inmune que conduce a la aparición de los autoanticuerpos permanece todavía sin esclarecer[41,42]. La relación de observaciones que denotan una alteración del sistema inmunitario es creciente, aunque es muy difícil precisar el significado patogénico real de las mismas. Todavía más, ¿cuántas de estas alteraciones están implicadas en el desarrollo de la enfermedad y cuántas constituyen, en realidad, una consecuencia de la misma?

Algunos autores han encontrado, en la sangre de los pacientes, una disminución del número de **linfocitos T** cooperadores (CD4+) y un aumento de linfocitos T supresores (CD8+), con disminución del cociente CD4/CD8. Por el contrario, otros autores no han corroborado estos resultados. También se ha observado un porcentaje elevado de linfocitos T activados que expresan moléculas HLA de clase II (DR). En este sentido, se especula que, en algunos pacientes, podrían aparecer, en los megacariocitos, moléculas de clase II (DR) inducidas por ciertas citocinas, como el interferón-γ (IFN-γ), quizás como resultado de una infección vírica, lo que favorecería la presentación de ciertos antígenos plaquetarios a los linfocitos T cooperadores y la subsiguiente producción de AAP. En el estudio de subpoblaciones se ha descrito la presencia concomitante de: disminución de linfocitos T inductores de células supresoras (CD4+ Leu8+), incremento de linfocitos T inductores de diferenciación B (CD4+ Leu8–) e hiperreactividad de los linfocitos T CD4+ de pacientes en presencia de plaquetas normales con hipersecreción de interleucina-2 (IL-2). A diferencia de los numerosos estudios serológicos y fenotípicos, la caracterización funcional de los linfocitos T de sangre periférica de los pacientes con PTAI es escasa. No obstante, algunos autores han observado que las células mononucleadas de sangre periférica presentan una respuesta proliferativa disminuida tras estímulos policlonales (fitohemaglutinina y anti-CD3). En uno de los casos incluidos en otro estudio, esta alteración se corregía tras presentar una respuesta favorable al tratamiento con Ig endovenosas en dosis altas. Posteriormente, se ha descrito una función supresora disminuida de los linfocitos T CD8+ en individuos afectados de PTAI seropositivos para el virus de Epstein-Barr (VEB). Este hecho podría explicar, para algunos autores, la hiperreactividad de los linfocitos T CD4+ y la presencia de linfocitos T activados en esta situación. Los estudios de actividad *natural killer* (NK) en la PTAI son escasos. Se ha descrito un defecto marcado de la actividad NK en algunos de estos casos, a pesar de que el número de células NK era normal.

En la sangre periférica y en el bazo de los pacientes con PTAI se ha descrito un porcentaje elevado de **linfocitos B** CD5+. Estos linfocitos son capaces de producir autoanticuerpos *in vitro*, aunque es discutible el papel patogénico que pueden desempeñar *in vivo*. Por otra parte, también se ha referido la presencia de linfocitos B clonales en esta enfermedad. Idénticas alteraciones han sido observadas en otros procesos autoinmunes, como el síndrome de Sjögren o la artritis reumatoide, con las que la PTAI comparte el enigma de la patogenia de la autoinmunidad.

A modo de resumen, cabe decir que, en la actualidad, se supone que las alteraciones encontradas en el compartimento T son las responsables de la disregulación inmune sobre la que se sustenta la patogenia de la PTAI, las cuales conducirían a la aparición de clones de linfocitos B autorreactivos con capacidad de producción de autoanticuerpos.

La presencia de **inmunocomplejos** (IC) **circulantes** ha sido detectada en numerosos pacientes con una supuesta PTAI, pero el significado patogénico de los mismos ha sido objeto de múltiples controversias. En el momento actual, la opinión más generalizada es la de que éstos no parecen desempeñar ningún papel en el desarrollo de la PTAI primaria[43]. No obstante, no se excluye su participación en la patogenia de las PTAI asociadas a otros procesos, fundamentalmente de tipo sistémico (lupus eritematoso, artritis reumatoide, vasculitis).

También podrían ser los responsables, en algún caso, de las trombocitopenias que acompañan a ciertas infecciones (malaria, septicemias, sida) o de las trombocitopenias inducidas por fármacos. Sin embargo, todavía no se ha aceptado plenamente su papel en estas situaciones[39].

Destrucción de las plaquetas y capacidad trombocitopoyética

Las plaquetas recubiertas por autoanticuerpos de tipo IgG son fagocitadas por los macrófagos activados por sus receptores FcRIIγ, fundamentalmente en el bazo. La variable expresión de estos receptores puede explicar las fluctuaciones clínicas en relación con cambios hormonales, embarazo u otros cambios a veces no identificados; también puede explicar la acción de algunos agentes terapéuticos. No queda claro si para los anticuerpos de clase IgM e IgA existe un mecanismo de actuación similar, ya que no se han podido identificar receptores específicos para los mismos en los macrófagos. Otra hipótesis se basa en la fijación de C3b a las plaquetas, detectada en bastantes casos; los macrófagos activados a través de sus receptores para el C3b fagocitarían a las plaquetas, o bien este factor del complemento las lisaría de forma directa. Finalmente, se ha sugerido que las plaquetas podrían ser destruidas por citotoxicidad dependiente de las células T.

La tasa de producción de plaquetas suele estar aumentada, como un mecanismo compensador de la destrucción periférica, aunque en la mayoría de casos, es insuficiente. La intensificación de la trombocitopoyesis se refleja en un incremento de la masa de megacariocitos, progenitores megacariocíticos y promegacarioblastos[41]. El incremento de progenitores es más manifiesto en la PTAI aguda, y se relaciona con la rapidez de la recuperación clínica, mientras que en algunas PTAI crónicas los progenitores pueden estar aumentados, normales o disminuidos, con una gran variabilidad individual[44]. La trombopoyetina es normal o está discretamente elevada en la PTAI, a diferencia de las trombocitopenias amegacariocíticas en que está significativamente aumentada[45]. En conjunto, a pesar del predominio de casos con megacariocitopoyesis aumentada, el comportamiento de los precursores plaquetarios y de sus factores reguladores es muy desigual.

Dada la semejanza antigénica entre las plaquetas y sus precursores, es lógico pensar que los anticuerpos antiplaquetarios puedan afectar a la trombocitopoyesis, y algunos estudios así lo sugieren. En la PTAI crónica se ha encontrado correlación inversa entre la positividad de los anticuerpos y el *turnover* plaquetario y, a nivel experimental, se ha evidenciado la presencia de anticuerpos adheridos a los megacariocitos de pacientes con PTAI y la inhibición de la trombocitopoyesis *in vitro*[46].

Clasificación

De forma esquemática, la PTAI puede clasificarse en primaria y secundaria. La forma primaria es la más frecuente, y es el objeto de este apartado, describiéndose a continuación sus manifestaciones clínicas así como su tratamiento. Las formas autoinmunes secundarias merecen un comentario aparte, pues puede observarse una trombocitopenia de mecanismo inmune asociada a diversas circunstancias.

Las enfermedades linfoproliferativas pueden ir acompañadas de trombocitopenia autoinmune. La leucemia linfática crónica es el escenario clínico más frecuente. Aparece en el 2% de todos los pacientes, y puede preceder al diagnóstico o aparecer en cualquier momento evolutivo. Un Coombs directo permite sospechar su existencia. Debe considerarse en pacientes con estadios no avanzados y megacariocitos en la médula ósea, o en estadios avanzados con trombocitopenia desproporcionada a la infiltración medular o a la esplenomegalia. En el paciente con linfoma de Hodgkin la plaquetopenia autoinmune se presenta, en general, posteriormente al diagnóstico, y en algunos casos, en remisión, lo que no significa un signo de recaída. Algún caso de aparente PTAI se ha diagnosticado finalmente de Hodgkin en la esplenectomía.

El 15-25% de los pacientes con lupus presentan trombocitopenia, aunque sólo el 5-10% de los mismos precisan tratamiento por esta afección. Se acepta que menos del 10% de pacientes con PTAI desarrollarán un lupus. La presencia de ANA o de antifosfolípido positivo en la PTAI carece, en general, de significado clínico predictivo de lupus.

La primoinfección por el VIH puede ocasionar una trombocitopenia intensa como primera manifestación de la enfermedad. La destrucción inmune plaquetar es el factor predominante en la fase inicial, y la disminución de la producción de plaquetas por la infección del megacariocito es el mecanismo implicado en las fases más tardías. El 3-8% de seropositivos presentan menos de 100×10^9 plaquetas/L y se observa trombocitopenia en el 30-45% de los pacientes con sida. La zidovudina mejora la trombocitopenia, y la respuesta a los corticoides y a las inmunoglobulinas por vía intravenosa es muy similar a la PTAI clásica primaria. La trombocitopenia secundaria inmune se ha descrito, asimismo, en la infección por el virus de la hepatitis C (VHC). El diagnóstico es más difícil al poder contribuir otros mecanismos causantes de trombocitopenia, como el hiperesplenismo de la hepatopatía crónica.

Las inmunodeficiencias también se han relacionado con trombocitopenia autoinmune secundaria, entre ellas, el déficit de IgA y la hipogammaglobulinemia común variable. En este último caso, es preferible no administrar tratamiento inmunosupresor que podría agravar la inmunodeficiencia ya existente.

Otras enfermedades con patogenia autoinmune, como la hepatitis crónica activa, las enfermedades inflamatorias intestinales y las tiroiditis autoinmunes, también pueden cursar con una trombocitopenia inmune secundaria.

Manifestaciones clínicas

El diagnóstico clínico de la PTAI es de exclusión. Se trata, desde el punto de vista clínico, de una trombocitopenia aislada, sin enfermedades aparentemente asociadas u otras causas de trombocitopenia. Las manifestaciones clínicas son variables y oscilan entre un cuadro purpúrico petequial y/o equimótico moderado hasta un sangrado por mucosas grave. Las epistaxis, gingivorragias y metrorragias son frecuentes, mientras que la hemorragia digestiva y la urogenital son más infrecuentes. En el adulto, hasta el 30-40% de casos se diagnostican de forma fortuita, a partir de un hemograma practicado por otros motivos.

Las petequias son asintomáticas y no palpables, lo que las diferencia de la púrpura vasculítica, como la púrpura de Schönlein-Henoch o la de hipersensibilidad farmacológica, en las que el paciente experimenta sensación de picor o quemazón y el componente purpúrico es palpable. Las petequias son más frecuentes en las extremidades inferiores que en el resto del organismo. A su vez, en la PTAI no se producen hematomas, circunstancia que debe hacer sospechar un problema de la hemostasia plasmática. Como regla general, la púrpura se manifiesta con contajes extremadamente bajos de plaquetas, por debajo de 10×10^9/L, aunque existe una importante varia-

bilidad individual. La palpación de adenopatías y/o esplenomegalia siempre debe cuestionar el diagnóstico de PTAI.

De forma clásica, la PTAI infantil se diferencia clínicamente de la del adulto. La tabla 34.3 muestra las principales diferencias entre las dos formas clínicas. La forma infantil se manifiesta después del antecedente de una infección vírica, unas 2-3 semanas antes del brote purpúrico, como sucede en más del 80% de casos. Los virus implicados son diversos, como virus respiratorios, VEB, citomegalovirus, rubéola, parvovirus y virus de la hepatitis A (VHA). La PTAI puede aparecer incluso después de una vacunación. La anamnesis debe recoger la existencia de antecedente infeccioso agudo, vacunaciones, fármacos, inmunodeficiencia, autoinmunidad, infección materna por VIH e historia familiar de trombocitopenia. El examen físico, al igual que en el adulto, también ha de descartar la presencia de adenopatías y hepatoesplenomegalia, aunque en la forma infantil pueden existir como manifestaciones de la infección vírica. Es importante reconocer en el niño alteraciones sugestivas de enfermedad congénita: alteraciones esqueléticas, auditivas, cutáneas y otras, para descartar diversos síndromes congénitos, como se comenta en otro apartado de este capítulo. El 83% de pacientes pediátricos se recupera de forma espontánea sin requerir tratamiento, en 2-8 semanas. El riesgo de hemorragia intracraneal (HIC) es muy bajo, y se estima de forma global en el 0,1 a 0,2%. La mayoría de las HIC suceden durante la primera semana. No obstante, el riesgo de HIC aumenta hasta el 1% en pacientes con persistencia de trombocitopenia inferior a 20×10^9/L a los 6-12 meses después del diagnóstico. El 10-20% de pacientes infantiles evolucionan a la cronicidad. A pesar de ello, su pronóstico es favorable, pues hasta el 80% se recuperan espontáneamente, incluso después de transcurridos varios años[47]. De ahí que sea recomendable establecer un período prolongado de seguimiento clínico, sin administrar tratamientos potencialmente tóxicos, pues la probabilidad de recuperación espontánea en las formas infantiles es muy elevada. Es importante que la familia entienda en el momento del diagnóstico que la mayoría de casos no precisará ningún tipo de tratamiento, pues la recuperación se producirá de forma espontánea, que se excluye la leucemia aguda, pues la probabilidad de que la trombocitopenia sea el inicio de la misma es inferior al 0,1%, y que el tratamiento sólo incrementa la cifra de plaquetas sin que influya en la recuperación a corto plazo.

Las manifestaciones clínicas en el paciente adulto es algo diferente, pues la púrpura en mucosas es más frecuente que en las formas infantiles y, además, como se ha mencionado previamente, muchos pacientes se diagnostican hallándose asintomáticos. El diagnóstico diferencial de la PTAI del adulto debe establecerse con la seudotrombocitopenia EDTA-dependiente, el hiperesplenismo por hepatopatía (en ocasiones no diagnosticada con anterioridad), la infección por VIH, las trombocitopenias familiares, los síndromes mielodisplásicos, los síndromes con microangiopatía y las trombocitopenias de causa farmacológica.

TABLA 34.3

Diferencias clínicas entre la PTAI infantil y la del adulto

	Infantil	Adulto
Sexo	V ≃ M	M > V
Inicio	agudo	insidioso
Antecedente infeccioso	sí	no
Remisión espontánea	83%	< 10%
Cronicidad	24%	43%
Mortalidad por hemorragia	< 1%	4%

Diagnóstico

El diagnóstico de la PTAI[39,41] se basa en la observación de un síndrome clínico bastante característico y un conjunto de pruebas de laboratorio, de tipo hematológico e inmunológico. La observación conjunta de la clínica y el laboratorio permite efectuar un diagnóstico global mediante el cual es posible diferenciar la PTAI de otros procesos que cursan con trombocitopenia y, asimismo, detectar la presencia de enfermedades asociadas. La edad de presentación más habitual de la PTAI es entre los 20 y los 55 años, con predominio del sexo femenino.

Manifestaciones clínicas y pruebas de laboratorio

En la PTAI, la trombocitopenia es el principal factor responsable de las manifestaciones clínicas. La **diátesis hemorrágica** suele ser de tipo purpúrico y afecta, principalmente, piel y mucosas, en forma de petequias, equimosis y hematomas; en los casos más graves, éstos son espontáneos o producidos por mínimos traumatismos. Cuando la trombocitopenia es importante pueden aparecer epistaxis, gingivorragias, hematurias y metrorragias. Las hemorragias digestivas son menos frecuentes y, afortunadamente, la hemorragia cerebral (habitualmente subaracnoidea) es excepcional (< 1%). No obstante, el riesgo es superior en los pacientes de edad avanzada. No existe una relación absoluta entre el número de plaquetas y la tendencia hemorrágica. La diátesis hemorrágica no suele observarse con cifras de plaquetas superiores a 50×10^9/L y, raramente es grave, si las cifras se mantienen por encima de $10\text{-}20 \times 10^9$/L. Desde el punto de vista clínico es muy importante diferenciar la llamada púrpura «húmeda» de la púrpura «seca». En el primer caso se trata de un paciente con un sangrado activo de mucosas, que indica un riesgo elevado de desarrollar una hemorragia intracraneal y que exige, en consecuencia, la instauración de una terapia inmediata. En el caso de la púrpura seca no suele requerirse tratamiento y, si se inicia, pueden emplearse recursos terapéuticos de acción más lenta.

Si además de la púrpura se observan **otras alteraciones clínicas**, como adenopatías o hepatoesplenomegalia, deben sospecharse otros diagnósticos o la posibilidad de que se trate de una PTAI asociada. La presencia de un bazo palpable constituye un motivo de exclusión de este proceso, sin embargo, en una serie amplia de pacientes se detectó la presencia de esplenomegalia en cerca del 3% de casos.

Entre los **parámetros hematológicos**, el dato más característico es la trombocitopenia que, en los casos más típicos, suele cursar con cifras de plaquetas inferiores a 50×10^9/L. Los megatrombocitos o plaquetas de gran tamaño pueden observarse en el frotis de los pacientes y, además, los contadores electrónicos delatan su presencia a través del VPM y de la amplitud de su curva de distribución, que estarán aumentados. La anemia puede estar presente cuando se ha producido un sangrado importante, generalmente acompañada de ferropenia. Si aparece anemia en ausencia de sangrado, debe

descartarse una posible hemólisis autoinmune asociada con la trombocitopenia (síndrome de Evans). El recuento y la fórmula leucocitarios son habitualmente normales, así como el resto de pruebas de coagulación plasmática. El tiempo de sangría puede estar prolongado pero, a menudo, en proporción menor a la que cabría esperar por la cifra de plaquetas. Esto se debe a la presencia en la sangre del paciente de plaquetas grandes y jóvenes, que son hemostáticamente más activas.

Las **trombocitopenias de hallazgo casual**, catalogadas en la literatura anglosajona como *incidentally detected thrombocytopenias*, constituyen un grupo muy importante del conjunto de las trombocitopenias primarias por las que son consultados los clínicos, y que acaban siendo tributarias de un estudio de autoanticuerpos plaquetarios[48]. El carácter moderado de la trombocitopenia (cifras de plaquetas generalmente superiores a 50×10^9/L), la ausencia de manifestaciones hemorrágicas y la estabilidad del proceso, les confieren en parte un perfil diferenciado de la PTAI. Se ha especulado con la posibilidad de que las trombocitopenias de hallazgo casual obedezcan a un estado trombocitolítico parcialmente compensado, cuya causa primaria se desconoce. En algunos casos, los autoanticuerpos podrían ser los causantes de una destrucción plaquetaria, que sería compensada hasta que otros factores adicionales, llamados de «estrés», agravarán la trombocitopenia y precipitarán la aparición de manifestaciones hemorrágicas. Estos factores podrían actuar tanto sobre la producción como sobre la supervivencia de las plaquetas y, entre ellos, cabe mencionar los déficit nutricionales (ácido fólico y vitamina B_{12}), los tóxicos (alcohol) y las infecciones víricas o bacterianas. Debido a su escasa repercusión clínica, apenas se dispone de información en torno a la producción y supervivencia plaquetarias en este tipo de pacientes, ya que, tratándose de un problema leve, ambas exploraciones suelen considerarse innecesarias o, como mínimo, excesivamente molestas para justificar su realización.

Investigación de autoanticuerpos plaquetarios

Los experimentos de Harrington en 1956 y los de Shulman en 1965, que demostraron claramente el papel central desempeñado por los autoanticuerpos plaquetarios en la patogenia de la PTAI, estimularon la búsqueda y el diseño de técnicas que permitieran evidenciar su presencia[48].

Durante años la investigación habitual de autoanticuerpos plaquetarios se ha venido efectuando, mayoritariamente, con técnicas basadas en el «principio de la antiglobulina», comparables a las de detección de autoanticuerpos eritrocitarios (prueba de Coombs) en las anemias hemolíticas autoinmunes. El éxito inicial de estas técnicas fue debido a la observación de que en más del 90% de pacientes con una trombocitopenia supuestamente inmune se detectaba una elevación de la IgG fijada a la plaqueta. Sin embargo, hallazgos posteriores vinieron a cuestionar la especificidad de estos resultados, ya que diversos autores comprobaron que el 30-88% de pacientes con trombocitopenia no inmune también presentaba un aumento de IgG. Las dificultades para determinar el nivel basal de IgG en los individuos sanos, y la diversidad de criterios seguidos para establecer las fronteras entre la normalidad, los valores correspondientes a una destrucción no inmune y los propios de una destrucción inmune, son algunos de los puntos repetidamente criticados cuando se cuestiona la fiabilidad de este tipo de técnicas. Por otra parte, ha podido verificarse que en el curso de la destrucción plaquetaria se produce un aumento de la tasa de otras proteínas, como albúmina, IgM e IgA, en la misma proporción que aumenta la IgG. El conjunto de estas consideraciones ha llevado a concluir que el incremento de la tasa de IgG que habitualmente se detecta en los pacientes con PTAI es un dato constante, pero no específico. La falta de especificidad se basa en que la cuantificación de IgG se realiza sin contemplar su orientación en la superficie de la plaqueta, es decir, si su presencia se debe a fijación específica (por el fragmento Fab) o inespecífica (por el receptor del fragmento Fc).

Para poder precisar si las Ig detectadas en la membrana plaquetaria corresponden en realidad a autoanticuerpos se requiere, desde el punto de vista inmunológico, poder eluir (separar) el supuesto anticuerpo de la membrana plaquetaria y reproducir su capacidad de reacción con las plaquetas de otros individuos. La **técnica de inmunofluorescencia para plaquetas** ideada por Von de Borne et al[21] permite aplicar este concepto y aporta, como ventaja adicional respecto a otros métodos, el tratamiento de las plaquetas con paraformaldehído (v. «Técnicas de detección de anticuerpos plaquetarios»).

La presencia de diátesis hemorrágica es el parámetro más útil para predecir el resultado de la investigación de autoanticuerpos plaquetarios que suele resultar positiva hasta en el 85% de los casos con clínica hemorrágica[48]. Por esta razón, en ausencia de manifestaciones clínicas es recomendable que la trombocitopenia sea catalogada como de hallazgo casual y, al contrario, las que habiendo cursado con diátesis hemorrágica se prolongan más allá de 6 meses, deberían catalogarse como PTAI crónicas. Esta clasificación puede ayudar a diferenciar más claramente las trombocitopenias de hallazgo casual de las verdaderas PTAI crónicas, y ambas de las PTAI agudas que por definición deberán cursar con diátesis hemorrágica como rasgo clínico distintivo. Asimismo, la calificación de trombocitopenia de hallazgo casual constituiría un título provisional, ya que transcurridos 6 meses de su hallazgo, la ausencia de manifestaciones clínicas y/o de AAP detectables permitiría catalogarla como trombocitopenia de origen oscuro o idiopática. Por el contrario, la aparición de diátesis hemorrágica y/o de autoanticuerpos a lo largo del mismo período permitiría su reclasificación como PTAI crónica. La clasificación de los pacientes con arreglo a los criterios mencionados permite obtener unos resultados serológicos más coherentes con la verdadera etiología de la trombocitopenia o con la fase de la PTAI en la que se encuentra el paciente en el momento de efectuar el estudio. Además, permite diferenciar los casos de trombocitopenia idiopática o de origen oscuro de los correspondientes a una verdadera PTAI.

Los primeros datos relativos a la **especificidad de los autoanticuerpos plaquetarios**[41,48-51] fueron aportados por Van Leeuwen, quien demostró que en un alto porcentaje de pacientes (< 80%) con PTAI, los autoanticuerpos no reaccionaban con las plaquetas afectadas de enfermedad de Glanzmann tipo I, carentes del complejo GPIIb-IIIa, sugiriendo que los autoanticuerpos iban dirigidos contra epítopes presentes en estas GP. Esta observación fue corroborada por otros autores[52] e indujo a la realización de múltiples estudios de especificidad, con la ayuda de diferentes procedimientos inmunoquímicos (fundamentalmente, *western-blot* y radioinmunoprecipitación), y con obtención de un número de resultados positivos muy limitado. No obstante, otros autores, re-

firieron especificidades frente a las GP IIIa, IIb y V. Una explicación razonable del escaso número de especificidades encontradas es la de que muchos autoanticuerpos van dirigidos contra epítopes localizados en antígenos conformacionales, es decir, únicamente presentes en las plaquetas en su forma nativa, y que se pierden durante el proceso de aislamiento de las mismas. En los casos en que se demuestra especificidad, el anticuerpo suele reconocer un determinante antigénico estructural, de presencia permanente e independiente de los cambios conformacionales que conlleva la manipulación de las plaquetas.

En otros estudios realizados con técnicas en fase sólida y empleando anticuerpos monoclonales frente a diferentes GP, se han obtenido especificidades frente al complejo GPIb-IX, y en estudios más recientes realizados con técnica de MAIPA (inmovilización específica de antígenos plaquetarios con anticuerpos monoclonales), se ha visto que esta especificidad es tan frecuente como la que existe frente al complejo IIb-IIIa. Una posible explicación del escaso número de especificidades encontradas es la extrema sensibilidad de la cadena α de la GPIb a la degradación proteolítica, por lo cual es preferible trabajar con anticuerpos monoclonales anti-GPIX. Además, ciertos monoclonales dirigidos contra el complejo Ib-IX podrían resultar inadecuados al competir por un epítope común con los autoanticuerpos en estudio; de ahí la necesidad de emplear más de un anticuerpo monoclonal en este tipo de técnicas. A pesar del incremento en el porcentaje de resultados positivos obtenidos con los actuales métodos, en muchos casos todavía no es posible demostrar la especificidad del anticuerpo[50]. Este hecho obliga a considerar a otros constituyentes de la membrana como posibles dianas de los mismos, como ya se ha observado en el caso de glucolípidos y fosfolípidos. Sin embargo, no se ha podido demostrar de forma inequívoca que los anticuerpos dirigidos contra estas estructuras desempeñen un papel importante en la patogenia de la PTAI.

En la PTAI asociada a lupus eritematoso se han detectado anticuerpos séricos dirigidos contra antígenos intracitoplasmáticos de diferente peso molecular[41]. En un estudio de 71 pacientes con lupus y trombocitopenia, se detectó un anticuerpo dirigido contra una proteína intracitoplasmática de 65 kDa, junto con la presencia de anticoagulante lúpico e historia de trombosis. La relevancia clínica de estos anticuerpos no está clara, ya que parecen un producto de la destrucción plaquetaria más que la causa de la trombocitopenia. En cualquier caso, es muy difícil interpretar estos resultados cuando el único material estudiado ha sido el suero de los pacientes; la omisión de la prueba directa y del estudio del eluido impide descartar que los anticuerpos detectados correspondan a genuinos autoanticuerpos implicados directamente en la trombocitopenia.

La posibilidad de diagnosticar la presencia de autoanticuerpos y de conocer al mismo tiempo la especificidad GP de los mismos ha suscitado un gran interés por este tipo de técnicas que, con pequeñas diferencias, se basan sistemáticamente en la inmovilización de las GP de membrana con la ayuda de anticuerpos monoclonales. Los estudios de carácter prospectivo más recientes señalan una sensibilidad baja (47-60%) y, por el contrario, una especificidad alta (78-92%), que hace necesaria una mejora sustancial en el nivel de sensibilidad de las mismas para su empleo ordinario en el diagnóstico de la PTAI[53].

Relación de la serología con la respuesta terapéutica

Una de las limitaciones repetidamente aducidas del estudio de autoanticuerpos plaquetarios es la falta de correlación entre los resultados serológicos y la actividad de la enfermedad. Sin embargo, en un estudio de Berchtold y Wenger[54] en el que empleaban una técnica de inmovilización de GP se muestra que la desaparición de los AAP coincide con una buena respuesta al tratamiento con prednisona. En un trabajo similar[53], se observó que una respuesta favorable al tratamiento con esteroides, esplenectomía, ciclofosfamida o quimioterapia combinada iba siempre acompañada de un importante descenso del nivel de anticuerpos e, incluso, de su desaparición, indicando que el principal mecanismo de acción de estos agentes terapéuticos podía residir en una inhibición de la producción de anticuerpos. Por el contrario, con el tratamiento con vincristina o danazol no se observaba este fenómeno, a pesar de producirse una respuesta favorable, lo cual sugería que el mecanismo de acción podría residir en una inhibición de la función fagocítica del SMF. Ambos estudios siguen siendo representativos de los escasos ejemplos existentes de correlación entre la serología y la clínica. A pesar de este inconveniente, el estudio de autoanticuerpos contribuye a clarificar la naturaleza inmune de la trombocitopenia en la mayoría de casos, lo cual justifica plenamente su realización cuando se dispone de las técnicas adecuadas[48].

Trombocitopatía inducida por autoanticuerpos plaquetarios

Algunos autoanticuerpos tienen la capacidad de inducir una alteración funcional de las plaquetas[39,41,56]. Clancy, en 1972, refirió por vez primera un trastorno de la agregación plaquetaria en una serie de pacientes y, posteriormente, otros autores confirmaron esta misma observación. Entre las alteraciones descritas figuran: alargamiento del tiempo de sangría, metabolismo anormal del ácido araquidónico y tendencia a las hemorragias. En ocasiones, la trombocitopatía puede persistir, a pesar de la normalización de la cifra de plaquetas, después de una terapia determinada. También se han descrito algunos casos de tromboastenia de Glanzmann «adquirida», secundarios a la acción de ciertos AAP dirigidos contra el complejo GPIIb-IIIa[41,56]. En un caso se observó que el anticuerpo inhibía la agregación plaquetaria *in vitro* inducida por ADP y colágeno. En otros dos casos, un anticuerpo anti-GPIIIa bloqueaba la unión del fibrinógeno a las plaquetas activadas por ADP, lo cual ocasionaba una diátesis hemorrágica grave. En un mieloma múltiple, el autoanticuerpo era una paraproteína IgG que ocasionó una diátesis hemorrágica fatal. En otro paciente afectado de PTAI, un anticuerpo dirigido contra un epítope de la GPIIIa inhibía la agregación plaquetaria, la liberación de ATP y la adhesión al colágeno y a la matriz subendotelial; solamente tras la administración de una terapia inmunosupresora suplementaria del tratamiento estándar con prednisona y azatioprina se consiguió controlar la diátesis hemorrágica y normalizar la función plaquetaria.

Otros autoanticuerpos dirigidos contra la GPIb o la GPIX pueden dar lugar a una alteración funcional equiparable a la del síndrome de Bernard-Soulier. También se han descrito situaciones en las que el anticuerpo ha alterado la hemostasia primaria, al reaccionar con un complejo homólogo del complejo GPIIb-IIIa presente en la superficie de las células endoteliales. En otros casos, los anticuerpos actúan activando las plaquetas a través de diferentes mecanismos: interacción

de los anticuerpos con el receptor plaquetario FcγII, activación del complemento o activación directa a través de un antígeno con capacidad de activación. En estos ejemplos el riesgo que se deriva es el desarrollo de una complicación trombótica, lo cual exige la administración profiláctica de agentes anticoagulantes o antiplaquetarios[41,56].

Análisis de los megacariocitos y de la cinética plaquetaria

En los pacientes con un cuadro característico de púrpura trombocitopénica y AAP positivos, el diagnóstico de PTAI es muy claro y, por ello, se cuestiona la idoneidad del estudio medular. Sin embargo, conociendo el comportamiento variable de los precursores plaquetarios, la observación de la médula ósea, además de mostrar el cuadro citológico general característico y de descartar otras patologías, puede ser útil para valorar el estado de la megacariocitopoyesis en un caso concreto, lo cual constituye una valiosa información si, en el futuro, la evolución es poco favorable[41]. Además, el aspirado medular practicado por un especialista competente constituye una exploración mínimamente cruenta que aporta una rápida y completa información. Por otra parte, en las trombocitopenias sugestivas de PTAI con AAP negativos la indicación del estudio medular es indiscutible. Ello es muy claro en la población pediátrica en la cual la determinación de los AAP, además de dar un bajo porcentaje de positividades, precisa una extracción sanguínea de cierto volumen, lo cual contraindica, en niños muy pequeños, su práctica habitual.

En la PTAI, el mielograma muestra un patrón bastante constante: celularidad global abundante, relación mieloeritroide conservada o con ligero aumento de la serie roja, desviación a la izquierda de la granulopoyesis, eosinofilia variable y ciertas linfocitosis, y plasmocitosis. Con frecuencia, además, se encuentran rasgos típicos de anemia ferropénica. Los megacariocitos suelen estar aumentados, pero, en algunos casos, pueden estar normales o disminuidos. Se observa el predominio de elementos poco granulados con escasez de plaquetas adosadas a la periferia celular, sugestivos de pertenecer a estadios inmaduros, o bien como una alteración independiente del estadio madurativo[57-59]. Otras alteraciones morfológicas son vacuolización y/o hialinización de algunas áreas citoplasmáticas.

La supervivencia plaquetaria está disminuida en todos los pacientes con PTAI y, a diferencia del patrón lineal que sigue en los individuos sanos, sigue un patrón exponencial que refleja la destrucción plaquetaria al azar[36,59,60]. La retención de plaquetas en el compartimento no circulante se produce en grados muy diferentes de un paciente a otro, con valores promedio poco alterados respecto a la normalidad y con una localización preferente en el bazo aunque, en las trombocitopenias muy importantes, ésta suele ser de predominio hepático. El *turnover* plaquetario presenta generalmente valores aumentados, aunque no siempre en proporción a la trombocitopenia; otras veces, es normal e incluso disminuido[59,61]. El estudio de la cinética plaquetaria no está indicado de forma indiscriminada en todos los casos de PTAI, puesto que no deja de ser una exploración con isótopos radiactivos y, además, las múltiples extracciones sanguíneas seriadas que precisa constituyen una molestia para el paciente[4,41]. Sin embargo, existen dos indicaciones claras para su determinación: *a*) en la trombocitopenia sin una causa aparente y con AAP negativos, el análisis de la supervivencia plaquetaria es el único medio para conocer si se trata o no de una PTAI, y *b*) cuando esté indicada una esplenectomía, en el marco del tratamiento de la PTAI, la valoración de la cinética plaquetaria es el único método que puede predecir los posibles resultados de la misma. En este sentido, la valoración combinada de la supervivencia con el *turnover* plaquetarios son los parámetros más indicativos. La supervivencia acortada junto a un *turnover* elevado denotan un alto componente de destrucción y, por tanto, la respuesta a la esplenectomía será probablemente positiva. En cambio, los parámetros inversos sugieren relativamente escasa destrucción con afectación de la trombocitopoyesis y, en consecuencia, un resultado poco positivo. Las detecciones externas del estudio cinético también son de gran valor para determinar si la destrucción mayoritaria de plaquetas se produce en el bazo (fig. 34.5) o bien existe un componente más o menos marcado de destrucción hepática; lógicamente, la esplenectomía será más exitosa en el primer caso.

Evaluación global del paciente y diagnóstico diferencial

Para establecer correctamente el diagnóstico de PTAI debe contemplarse la totalidad de factores clínicos, hematológicos e inmunológicos enunciados[41]. Un sencillo protocolo diagnóstico de trabajo que incluya anamnesis y exploración física, un recuento de las plaquetas en muestras extraídas en EDTA, y en un segundo anticoagulante distinto del EDTA, un escrupuloso examen del número, distribución y morfología de las plaquetas en el frotis sanguíneo; finalmente, la positividad de los autoanticuerpos puede permitir definir la auténtica naturaleza de la trombocitopenia.

Con cierta frecuencia, suelen asumirse como PTAI todas aquellas trombocitopenias no justificables por otras causas; sin embargo, se llega a esta conclusión sin agotar los recursos disponibles y, por tanto, sin que se cumplan totalmente los criterios de PTAI. Una clínica hemorrágica mínima o ausente, en discordancia con el grado de trombocitopenia, y/o la ausencia de autoanticuerpos, son factores en contra del diagnóstico de PTAI, que obligan, como mínimo, a un replanteamiento de la posible etiología de la trombocitopenia. Aunque en algunos casos de PTAI no puede demostrarse la presencia de autoanticuerpos (sensibilidad insuficiente de la técnica, interferencias relacionadas con el tratamiento, etc.), un resultado negativo obliga, especialmente, a excluir otros procesos que pueden simular una PTAI, con la que a menudo son confundidos. Si no se tienen en cuenta, se establecerán diagnósticos erróneos que, en ocasiones, conllevan la instauración de terapias innecesarias y no siempre exentas de riesgo. Así, entre los procesos frente a los que la PTAI requiere un diagnóstico diferencial cabe destacar, por su frecuencia, las falsas trombocitopenias relacionadas con factores técnicos y las seudotrombocitopenias de causa inmune. Otra entidad, probablemente infravalorada en su frecuencia y que puede ser confundida con la PTAI, es la macrotrombocitopenia constitucional[62] o conjunto de síndromes hereditarios caracterizados por un aumento del tamaño de las plaquetas, sin déficit funcionales significativos. La macrotrombocitopenia puede presentarse de forma aislada o asociada con inclusiones leucocitarias y/o a síndrome Alport-*like*. El estudio familiar de los pacientes, la valoración del VPM, la recogida de la muestra en un anticoagulante distinto al EDTA, el recuento de plaquetas por métodos microscópicos y, especialmente, la observación del frotis sanguíneo, son decisivos en el diagnóstico diferencial entre estos procesos y una PTAI. Algunos pacientes pue-

den estar afectados por trombocitopenias selectivas de origen central, relacionadas con síndromes mielodisplásicos (trombocitopenia refractaria), factores tóxicos (etilismo) o de causa infecciosa. Un examen morfológico detallado de la sangre periférica y el estudio de la médula ósea, además de los análisis complementarios adecuados, pueden ser de gran ayuda para establecer un diagnóstico correcto.

Tratamiento de la PTAI

Principios generales

El primer objetivo en el tratamiento de la PTAI, más que intentar normalizar la cifra de plaquetas, es conseguir una cifra de plaquetas que evite el sangrado. Por tanto, una actitud adecuada es no tratar a pacientes con trombocitopenias moderadas (> 30-50 $\times$ 10^9/L) sin sintomatología hemorrágica acompañante. La iatrogenia de un tratamiento puede ser más perjudicial que un estrecho seguimiento clínico sin tratamiento activo en los pacientes con PTAI asintomáticos. Incluso en pacientes con trombocitopenias inferiores a 30 $\times$ 10^9/L también debe valorarse siempre la necesidad de tratamiento en función de la presencia o ausencia de síntomas hemorrágicos, la edad y el estilo de vida del paciente, así como la presencia de enfermedades asociadas que puedan suponer un mayor riesgo de sangrado, como hipertensión arterial o ulcus péptico, entre otras. Debe recordarse que el riesgo hemorrágico aumenta de forma considerable con recuentos de plaquetas inferiores a 30 $\times$ 10^9/L, pero que las manifestaciones hemorrágicas son muy variables entre individuos afectados de PTAI, y que diferentes pacientes con la misma cifra de plaquetas pueden estar completamente asintomáticos o presentar un sangrado activo. No obstante, en general se considera que independientemente de la presencia o ausencia de síntomas, cualquier paciente con una cifra de plaquetas inferior a 10 $\times$ 10^9/L debería recibir tratamiento hasta conseguir una cifra de plaquetas hemostáticamente segura.

Debido a los diferentes criterios de tratamiento y a la variabilidad de los mismos, la Sociedad Norteamericana de Hematología propuso en 1996 una guía de práctica clínica en la que se analizaron los niveles de evidencia de las diversas opciones terapéuticas, realizando comparaciones entre los aspectos apropiados, inapropiados, necesarios o innecesarios de los diferentes tratamientos. Este estudio aportó información muy útil, pues por primera vez se proporcionaron unos criterios o guías de actuación que validaron o cuestionaron estrategias terapéuticas y que, además, se hallaban respaldadas por el consenso de los principales expertos en PTAI de una sociedad científica[63]. Posteriormente, en 2003, aparecieron las recomendaciones de la Sociedad Británica de Hematología[64]. A ambas nos referiremos en la descripción de las diferentes posibilidades terapéuticas.

Por último, siempre debe recordarse que la eficacia de un tratamiento en la PTAI se valora por la cifra de plaquetas (parámetro fácilmente cuantificable), y no por las manifestaciones clínicas de sangrado, que, en definitiva, son las más importantes, aunque difícilmente objetivables mediante sistemas de gradación de las mismas.

De forma esquemática, y con la limitación que supone tal abordaje, dividiremos el tratamiento en tres líneas terapéuticas, como se muestra en la tabla 34.4.

TABLA 34.4

Tratamiento de la PTAI

1.ª línea	2.ª línea	3.ª línea
Observación Corticoesteroides Ig i.v. Anti-D	Esplenectomía	Danazol Inmunosupresores Alcaloides de la vinca Otras opciones

Primera línea de tratamiento

Corticoides. Los corticoides se introdujeron en 1958 por Dameshek en el tratamiento de la PTAI, y son la primera línea de tratamiento preconizada por los expertos, en pacientes adultos con trombocitopenias inferiores a 20-30 $\times$ 10^9/L o inferiores a 50 $\times$ 10^9/L y sangrado por mucosas o factores de riesgo (HTA, ulcus). La *prednisona* en dosis de 1 mg/kg/día es el corticoide más ampliamente utilizado. Su administración durante 3-4 semanas produce un aumento de la cifra de plaquetas por encima de 50 $\times$ 10^9/L en más del 65% de pacientes en las dos primeras semanas del tratamiento, aunque tan sólo en el 10-20% se observa una respuesta prolongada (después de los 6 meses). La conducta clínica más aceptada establece que se disminuya posteriormente la dosis después de haber normalizado la cifra de plaquetas, de tal forma que una dosis mínima consiga una cifra de plaquetas suficiente para disminuir el riesgo hemorrágico. Su mecanismo de acción reside en la inhibición o disminución de la captación por los macrófagos de las plaquetas recubiertas por el anticuerpo. También inhibe la producción de anticuerpos y, por otra parte, mejora el sangrado cutáneo por efecto directo vascular, lo que explica su efecto «hemostático» en dosis bajas (5-10 mg/día).

La metilprednisolona en dosis altas (15-30 mg/kg/día i.v.; dosis máxima 1 g/día; durante 3 días) consigue una respuesta más rápida que las dosis convencionales de prednisona, aunque la experiencia con este tratamiento es limitada. Se acostumbra a utilizar conjuntamente con dosis altas de inmunoglobulina intravenosa y transfusión de plaquetas en los pacientes con riesgo vital de sangrado. La *dexametasona* en dosis altas (40 mg/día v.o., durante 4 días) también se ha empleado como primera línea de tratamiento del paciente con PTAI. El 85% de pacientes responden y, lo que es más llamativo, el 50% de los pacientes con respuesta mantienen una cifra de plaquetas superior a 50 $\times$ 10^9/L a los 2-5 años de seguimiento, con tan sólo un único ciclo de tratamiento. Como sucede en experiencias clínicas limitadas, debe confirmarse la eficacia de este tratamiento antes de que constituya un estándar aceptado de práctica clínica.

Siempre deben tenerse en cuenta los efectos adversos de los corticoides (hiperglucemia, hipertensión, osteoporosis, efectos sobre el sistema nervioso central) cuando se utilizan a largo plazo[65]. Dosis tan bajas como 5 mg/día de prednisona pueden causar osteoporosis por inhibición de la secreción diurna de cortisol.

Inmunoglobulinas polivalentes intravenosas. Las inmunoglobulinas por vía intravenosa constituyen, por su rapidez de acción, el tratamiento de elección del paciente con sangrado activo cuando se desea obtener una rápida respuesta. En dosis de 1 g/kg/día i.v., durante 2 días, aumentan la cifra de plaquetas en el 85% de pacientes, incremento que puede observarse a

partir del primer o segundo día, o, como máximo, a la semana del inicio. En los niños puede ser suficiente una dosis única de 0,8 g/kg por vía i.v. La respuesta es temporal, y dura unas 3-4 semanas, al cabo de las cuales suele administrarse la dosis siguiente en caso necesario. Su mecanismo de acción radica en la saturación de los receptores Fc del SMF, lo que disminuye el secuestro o destrucción de las plaquetas recubiertas con autoanticuerpos. Están indicadas en las urgencias hemorrágicas, como tratamiento preesplenectomía para lograr una cifra de plaquetas hemostáticamente quirúrgica, como terapéutica que retrase la esplenectomía en los casos infantiles, en pacientes embarazadas con PTAI que precisen tratamiento y, en general, como medio para «dar tiempo» a la acción de otros tratamientos.

Como efectos adversos, se han descrito reacciones de tipo anafiláctico durante su infusión, cefalea y náuseas, por lo que es recomendable iniciar la infusión intravenosa a ritmo lento y administrarlas durante varias horas. También se ha notificado la aparición de insuficiencia renal aguda en pacientes con factores predisponentes a la misma (diabetes, discreto fallo renal previo, edad avanzada) y que parece estar relacionada con el contenido en sacarosa del producto[66].

Inmunoglobulina anti-D. La inmunoglobulina anti-D (IG anti-D) es un tratamiento efectivo únicamente en los pacientes Rh positivos no esplenectomizados. Su mecanismo de acción se basa en el bloqueo de los receptores Fc del SMF por los eritrocitos Rh positivos recubiertos de anti-D, lo que impide que los receptores Fc capten las plaquetas recubiertas de autoanticuerpos. La toxicidad dosis-limitante es la hemólisis que suele producirse por este mecanismo, aunque en general es limitada. La IG anti-D es eficaz en pacientes VIH positivos con trombocitopenia autoinmune. La dosis recomendada es de 50-75 µg/kg/día, en infusión i.v. de 10-15 minutos. Dos tercios de los pacientes suelen responder, con un efecto que dura 3 semanas[66,67].

Segunda línea de tratamiento

Esplenectomía. La esplenectomía se ha considerado el tratamiento de elección en los pacientes con PTAI que no responden al tratamiento inicial con corticoides o que precisan dosis altas para mantener una cifra hemostática de plaquetas. La finalidad de la esplenectomía es eliminar el territorio donde se destruyen las plaquetas, que, a su vez, es el sitio principal de producción de anticuerpos. Por tanto, no es un procedimiento curativo, pues no actúa sobre el mecanismo patogénico, pero elimina el elemento que destruye las plaquetas. Un 60-70% de pacientes responden a la esplenectomía, consiguiendo una normalización del recuento de plaquetas. La mayoría de recaídas se observan durante los dos primeros años posteriores a la misma, aunque existe un pequeño porcentaje de pacientes que puede recaer hasta 10 años después. En general, es una indicación aceptada cuando existe refractariedad a la primera línea de tratamiento y cuando el paciente necesita 10 o más miligramos diarios de prednisona, por los efectos secundarios que pueden aparecer a largo plazo, como osteoporosis, miopatía, hiperglucemia, hipertensión, glaucoma, cataratas, cambios neuropsiquiátricos, etc.

Como preparación para la esplenectomía y para conseguir un número de plaquetas suficiente para la cirugía, las IG intravenosas constituyen habitualmente el tratamiento más utilizado antes de la esplenectomía. En general, se acepta que 50×10^9/L garantiza una hemostasia quirúrgica, aunque es conocido el escaso sangrado observado en pacientes con cifras previas a la cirugía extremadamente bajas. Por otra parte, se ha relacionado la respuesta a la infusión de IG antes de la esplenectomía como un factor predictor positivo de respuesta a la misma, aunque no existe acuerdo generalizado al respecto. Aparte de las IG por vía i.v., la edad joven del paciente, la trombocitosis postesplenectomía y el secuestro esplénico plaquetar evidenciado por plaquetas autólogas recubiertas de indio-111 han sido los factores con supuesta mayor capacidad predictiva del éxito de la esplenectomía. Siempre debe intentar detectarse antes del procedimiento la presencia de un bazo accesorio, hallazgo anatómico relativamente frecuente en la población general y que podría explicar alguno de los fallos postesplenectomía, aunque no se ha comprobado que su extirpación posterior mejore todos los casos de fallo a la esplenectomía.

La morbilidad y mortalidad de la esplenectomía parece ser menor con laparoscopia que con cirugía convencional, como se ha descrito en una revisión exhaustiva de la literatura médica[68]. En cualquier caso, la elección de la técnica más adecuada debe realizarse siempre de forma individual, pues no es lo mismo una esplenectomía laparoscópica en un paciente joven sin morbilidades, que en un paciente de edad avanzada con enfermedades o trastornos asociados.

El principal riesgo de la esplenectomía, aparte de los riesgos inmediatos periquirúrgicos y posquirúrgicos, es el riesgo de una infección bacteriana grave postesplenectomía. La población más susceptible es la de los niños menores de 5 años, pero en los adultos persiste también cierto riesgo infeccioso durante toda la vida. La complicación más grave del esplenectomizado es la sepsis fulminante. Con el fin de evitarla, se recomienda que, como mínimo dos semanas antes de la esplenectomía, se proceda a la vacunación del sujeto con las vacunas para *Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae* B y *Neisseria meningitidis*. La revacunación con la vacuna antineumocócica debería repetirse cada 5 años. La administración profiláctica de antibióticos después de la esplenectomía no se halla consensuada de forma universal; algunos expertos recomiendan 3 años de profilaxis antibiótica. En cambio, existe consenso en que el paciente esplenectomizado que presente fiebre inicie, lo más pronto posible, un tratamiento antibiótico de amplio espectro.

Tercera línea de tratamiento

El 20-30% de adultos con PTAI son refractarios al tratamiento, y representan un grupo de difícil abordaje clínico. La primera regla en esta situación debería ser que el tratamiento no sea peor que la enfermedad, considerando siempre los riesgos y efectos secundarios del mismo frente a los beneficios obtenidos. Aunque un paciente presente una cifra de plaquetas inferior a 20×10^9/L, si no manifiesta clínica hemorrágica, lo más adecuado es el seguimiento clínico periódico. En ocasiones, la administración de 5-10 mg de prednisona en días alternos, combinada con antifibrinolíticos, puede ser suficiente. Debe recordarse que: *a*) la mortalidad global de los pacientes con PTAI es similar a la de la población general, aunque los pacientes con PTAI crónica refractaria presentan un riesgo de mortalidad cuatro veces superior, pero los fallecimientos se deben tanto al sangrado como a la infección secundaria al tratamiento inmunodepresor, y *b*) el sangrado grave se relaciona, en general, con trombocitopenia inferior a 10×10^9/L.

Una revisión de las diferentes modalidades de tratamiento después del fallo de la esplenectomía, y que comprendía 636 pacientes tratados con 22 tipos diferentes de tratamiento, no evidenció ninguna efectividad específica de las diferentes terapéuticas efectuadas, concluyendo que actualmente todavía no se pueden preconizar en este contexto recomendaciones específicas[69]. A continuación, se describen los agentes más utilizados en esta situación.

Danazol. Es un andrógeno utilizado en el tratamiento de la endometriosis, que consigue respuestas en el 20-30% de pacientes. Los individuos de edad avanzada y esplenectomizados son los que responden mejor. La hipótesis de su acción es una disminución del número de receptores Fc de los macrófagos esplénicos. La dosis recomendada es de 400 a 800 mg/día, que debería mantenerse durante un mínimo de 6 meses antes de considerar un fracaso de respuesta. En ocasiones, se observan respuestas mantenidas de larga duración una vez suspendido el fármaco.

Los efectos secundarios incluyen toxicidad hepática, efectos masculinizantes, ganancia de peso y amenorrea. Se han descrito casos con aparición de peliosis y tumores hepáticos. Paradójicamente, también se ha relacionado este fármaco con la aparición, en dosis altas, de trombocitopenia.

Inmunosupresores. La *azatioprina* en dosis de 2 mg/kg/día y administrada durante un mínimo de 4 meses, logra respuestas en el 20-40% de pacientes refractarios. Su efecto adverso más frecuente es la mielodepresión, pero su principal inconveniente es que puede favorecer la aparición de linfomas, síndromes mielodisplásicos y leucemia. No obstante, en el paciente de edad avanzada y con síntomas hemorrágicos puede constituir una alternativa válida.

La *ciclofosfamida* puede administrarse por vía oral, a razón de 1-2 mg/kg/día, o intravenosa en bolo intermitente en dosis de 1,0-1,5 g/m^2. Los efectos adversos incluyen cistitis hemorrágica, esterilidad, alopecia y segundas neoplasias. Al igual que la azatioprina, su efecto puede diferirse hasta transcurridos 4 meses del tratamiento, y no es una opción recomendable en el paciente joven. Una potencial ventaja de la azatioprina y la ciclofosfamida es que sus efectos pueden persistir a largo plazo una vez suspendido el tratamiento.

La *ciclosporina* también ha sido utilizada en pacientes refractarios a otras formas de tratamiento. Con dosis iniciales de 5 mg/kg/día durante 6-7 días, seguido de 2,5-3,0 mg/kg/día de mantenimiento hasta conseguir niveles sanguíneos de 200-400 ng/mL, puede conseguir respuestas prolongadas en el 40-60% de pacientes. Sus principales efectos secundarios son: hirsutismo, insuficiencia renal, hipertensión y riesgo de segundas neoplasias. El *micofenolato*, otro inmunosupresor, también ha sido descrito en respuestas favorables, aunque su experiencia es muy limitada.

Recientemente, el anticuerpo monoclonal quimérico humanizado anti-CD20 ha sido incorporado como una posible opción en el tratamiento de los pacientes con PTAI refractaria. Cooper evaluó los resultados de este tratamiento en 57 pacientes adultos refractarios, que habían recibido dos o más líneas previas de tratamiento. Con dosis de 375 mg/m^2 cada semana, durante 4 semanas, consiguió valores superiores a 50 × 10^9/L de plaquetas en un 54% de pacientes, en las primeras 8 semanas después de la primera infusión. Adicionalmente, el 28-32% de pacientes mantuvieron la respuesta después de una mediana de seguimiento de 72 semanas. La esplenectomía no influenció en el tipo de respuesta. Asimismo, no se observaron infecciones atípicas en los pacientes tratados[70].

Considerando su buena tolerancia (independientemente de los posibles efectos inmediatos infusionales), el tratamiento con anti-CD20 se perfila como una opción interesante en los pacientes candidatos a inmunosupresión.

Alcaloides de la vinca. La *vincristina* y la *vinblastina* se han usado en el tratamiento del paciente refractario, por su capacidad de provocar trombocitosis transitoria. Las dosis empleadas con mayor frecuencia son: vincristina 2 mg i.v. y vinblastina 5-10 mg i.v., de forma semanal, durante 4 a 6 semanas. Sus efectos adversos son neuropatía periférica y estreñimiento (incluso íleo paralítico), por lo que no son aconsejables en el paciente de edad avanzada.

Dapsona. La dapsona, utilizada en el tratamiento de la dermatitis herpetiforme, lepra y *Pneumocystis carinii*, obtiene respuestas en el 50% de pacientes, con dosis de 75-100 mg/día. Su principal efecto secundario es la anemia hemolítica, lo que se debe tener en cuenta especialmente en los pacientes con déficit de glucosa-6 fosfato-deshidrogenasa. Posiblemente, su efecto beneficioso es a través del bloqueo del sistema mononuclear fagocítico, por su acción hemolítica.

Otras opciones terapéuticas

La observación de respuestas en pacientes con PTAI crónica a los que se les erradicó la infección por *Helicobacter pylori*, suscitó la posibilidad de que constituyese un posible tratamiento. Diversos estudios mostraron resultados contradictorios. Los resultados actuales sugieren que algún paciente, especialmente los jóvenes y los que tienen una enfermedad moderada o de corta duración son los que podrían beneficiarse del tratamiento erradicador, mientras que en los pacientes con trombocitopenia intensa la respuesta es probablemente mínima o nula[71]. Por el momento, no pueden hacerse recomendaciones sólidas al respecto, aunque la mínima toxicidad del tratamiento erradicador hace que sea una opción que se debería considerar.

La poliquimioterapia ha sido considerada en casos absolutamente refractarios a otros tratamientos. La combinación de ciclofosfamida 750-1.000 mg/m^2 día 1, vincristina 2 mg i.v. día 1 y metilprednisolona 1.000 mg i.v. días 1, 2 y 3, cada 3-4 semanas, un total de 4-6 ciclos, es una opción en los pacientes que no responden a ningún tipo de tratamiento. También se ha utilizado el anticuerpo monoclonal humanizado alemtuzumab (CAMPATH-1H) con respuestas variables. Dado su intenso efecto inmunosupresor, parece más lógico considerar en primer lugar el anti-CD20, por su excelente tolerancia.

Finalmente, en casos con clínica hemorrágica potencialmente mortal y totalmente refractarios a todo tipo de tratamientos, puede contemplarse como opción el trasplante autógeno de progenitores hematopoyéticos, aunque el limitado número de pacientes trasplantados no permite hacer recomendaciones específicas sobre qué tipo de pacientes podrían beneficiarse de este procedimiento.

Tratamiento de las urgencias hemorrágicas

En los pacientes con sangrado visceral muy grave (cerebral, digestivo) la aproximación terapéutica debe contemplar la

transfusión de plaquetas, la administración de IG por vía i.v. en dosis de 1 g/kg/día y pulsos de metilprednisolona a razón de 1 g i.v. durante 3 días. Las transfusiones de plaquetas pueden proporcionar soporte hemostático inmediato, a pesar de su rápida destrucción. Idealmente, deberían administrarse después de las IG por vía i.v. El ácido aminocaproico a razón de 5 g inicialmente, y posteriormente, 1 g cada 5 horas, también puede ayudar en el control del sangrado grave.

Trombocitopenias inmunes inducidas por fármacos

Existen dos grandes grupos de trombocitopenias inducidas por fármacos (TIF) mediante un mecanismo inmune: las inducidas por heparina y las inducidas por otros fármacos. (tabla 34.5) Las primeras, que suelen manifestarse con fenómenos trombóticos, se producen por un mecanismo inmune peculiar, y se exponen en el Capítulo 38.

Mecanismos patogénicos

Muchas de las bases teóricas sobre las que se fundamentan nuestros conocimientos acerca de la patogenia de las TIF han sido deducidas por analogía con las anemias hemolíticas inducidas por fármacos[72-74].

Clásicamente, se aceptan tres posibles mecanismos patogénicos: inmunocomplejos (IC), adsorción y acción autoinmune. Aunque hipotéticos y no exentos de defectos, estos mecanismos han sido ampliamente aceptados aunque, en los últimos años, han sido cuestionados, especialmente en lo que concierne a las rígidas fronteras establecidas entre ellos, y se propugna la idea de un mecanismo patogénico unificado, de manera que un mismo fármaco podría actuar a través de cualquiera de los tres mecanismos clásicos e, incluso, por los tres a la vez.

Inmunocomplejos

En este mecanismo se supone que los anticuerpos desencadenados por el fármaco reaccionan con éste, en primer término, y que, posteriormente, el inmunocomplejo resultante se fija a las plaquetas a través del receptor para el fragmento Fc de las IgG. Serológicamente, sólo se demostraría reactividad frente a plaquetas en presencia del fármaco, y ésta no sería inhibida por un exceso en la concentración de antígeno. Por este motivo, cuando la investigación de anticuerpos antiplaquetarios dependientes del fármaco se realiza una vez interrumpida su administración, se requiere una incubación del suero del paciente con el fármaco sospechoso antes de enfrentar el suero a las plaquetas (fig. 34.6a).

TABLA 34.5

Relación de algunos de los fármacos considerados inductores de trombocitopenia inmune

Antiinflamatorios	Acido acetilsalicílico	Indometacina	Sulindaco
	Diclofenaco	Pirazolonas	Tolmetín
	Fenoprofeno	Piroxicam	
Analgésicos-antipiréticos	Paracetamol		
Antibacterianos	Amikacina	Gentamicina	Pentamidina
	Ampicilina	Lincomicina	Rifampicina
	Azlocilina	Meticilina	Sulfasalazina
	Cefalexina	Nitrofurantoína	Tobramicina
	Cefalotina	Oxitetraciclina	Trimetoprima
	Cefamandol	Acido nalidíxico	Vancomicina
	Etambutol	Penicilina	
Alcaloides de la quina	Quinidina	Quinina	
Ansiolíticos, hipnóticos, anticonvulsivantes	Carbamazepina	Diazepam	Valproato sódico
	Clonazepam	Fenitoína	Ácido valproico
Derivados de las sulfamidas	Acetazolamida	Diazóxido	Tolbutamida
	Clorpropamida	Furosemida	
Miscelánea	α-interferón	Danazol	Levodopa
	α-metildopa	Derivados antimoniales	Mexiletina
	Alopurinol	Desferrioxamina	Minoxidil
	Amfotericina B	Digitoxina	Nomifensina
	Amiodarona	Digoxina	Pentagastrina
	Amrinona	Formestane	Procainamida
	Captopril	Glibenclamida	Ranitidina
	Clorotiazida	Heparina	Sales de oro
	Cimetidina	Hidroclorotiazida	Tioguanina
	Ciclofosfamida	Levamisole	

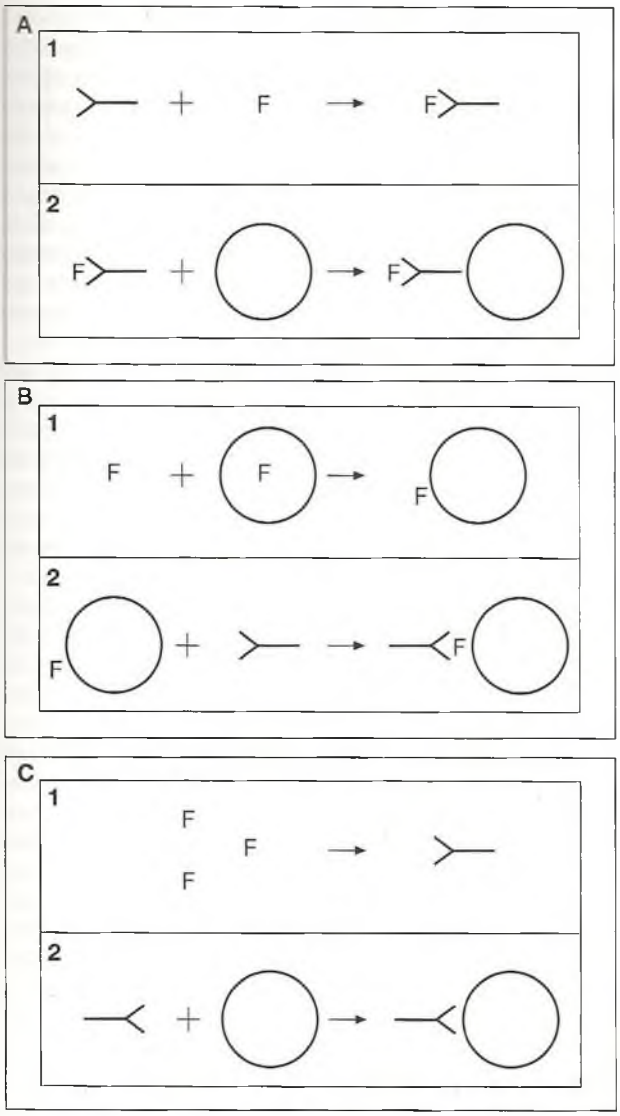


Figura 34.6. Mecanismos patogénicos en las trombocitopenias inducidas por fármacos; *a*) inmunocomplejos: los anticuerpos inducidos por el fármaco (F) forman inmunocomplejos con el mismo y se adhieren a la membrana plaquetaria por el receptor Fc de la IgG; *b*) adsorción: tras la fijación del fármaco (F) a la membrana plaquetaria, los anticuerpos resultantes la destruyen; *c*) autoinmune: el fármaco (F) induce la formación de anticuerpos antiplaquetarios con capacidad para reaccionar con las plaquetas sin la presencia del fármaco.

En muchos casos, el agente inmunizante es alguno de los metabolitos en los que el fármaco se transforma *in vivo*, por lo cual, el estudio serológico completo debe incluir el análisis de los mismos. Probablemente, el escaso rendimiento de muchos estudios serológicos obedece al empleo exclusivo del fármaco en su forma nativa, omitiendo el examen de sus metabolitos. Como no siempre es posible disponer de ellos o, en ocasiones, se desconocen, una excelente alternativa es la utilización de los llamados antígenos *ex vivo*, como orina o suero procedentes de voluntarios o de pacientes sometidos al mismo tratamiento en dosis terapéuticas.

Los anticuerpos inducidos por fármacos muestran un alto grado de especificidad celular, de manera que reaccionan de forma exclusiva con un tipo determinado de células (p. ej., las plaquetas) pero no con el resto (granulocitos y hematíes). Esta especificidad se demuestra en los casos en que un suero contiene dos tipos de anticuerpos inducidos por un mismo fármaco. Chong et al[75] describieron un paciente afectado de trombocitopenia y granulocitopenia secundarias a la acción de dos tipos de anticuerpos inducidos por quinidina, uno que reaccionaba exclusivamente con las plaquetas y otro con los granulocitos. Igualmente, Mueller-Eckhardt y Salama[73] han referido tres casos de anemia hemolítica y trombocitopenia inducidas por nomifensina, en los que podían distinguirse dos poblaciones de anticuerpos diferenciadas, una específica de los hematíes, y otra, de las plaquetas.

El carácter específico de estos anticuerpos discrepa del mecanismo de acción por IC, ya que éstos deberían fijarse a los receptores Fc presentes en todas las células sanguíneas y tejidos, y no, selectivamente, con los receptores de algunas de ellas. Otro hecho discordante, observado por diferentes autores, es que muchos de los anticuerpos inducidos por fármacos reaccionan específicamente con ciertos antígenos de la membrana plaquetaria, a través de la fracción $F(ab)_2$ y no a través de la fracción Fc, como correspondería a los IC[74]. Por ejemplo, muchos anticuerpos antiplaquetarios inducidos por quinina y quinidina reconocen determinantes antigénicos presentes en las GP Ib, V, IIb, IIIa, IX y una proteína de 57 kDa, todavía no bien caracterizada, pero ausente en los pacientes afectados de síndrome de Bernard-Soulier. Lo mismo puede decirse de algunos anticuerpos inducidos por sulfonamidas, que reaccionan de forma específica con determinados epítopes presentes en el complejo IIb/IIIa. Asimismo, se han demostrado poblaciones de anticuerpos con diferentes especificidades en un mismo paciente, de forma comparable a lo que sucede con algunas anemias hemolíticas producidas por fármacos en las que los anticuerpos reconocen diferentes estructuras antigénicas.

En conjunto, estas observaciones sugieren que la TIF puede resultar de la interacción específica entre los antígenos presentes en la membrana plaquetaria y los anticuerpos inducidos por el fármaco o sus metabolitos.

Mecanismo de adsorción

Este mecanismo de acción ha sido deducido a partir del establecido en los numerosos casos de anemia hemolítica inducida por penicilina. Se supone que este fármaco sería capaz de desencadenar la respuesta inmune sin la intervención de constituyentes de la membrana eritrocitaria, pero cuando la cantidad de anticuerpos producida fuera importante, no sólo se fijarían al antígeno libre en plasma sino también a los derivados penicilínicos unidos covalentemente a la membrana celular. Como consecuencia, los hematíes sensibilizados por la penicilina serían secuestrados y degradados por el SMF, determinando un cuadro de hemólisis extravascular, generalmente sin la activación del complemento. Este mismo mecanismo se ha atribuido a otros antibióticos relacionados con la penicilina, especialmente a diferentes tipos de cefalosporinas. Además, un número muy reducido de casos de pacientes sometidos a tratamiento con cefalotina desarrolla una prueba de antiglobulina directa (prueba de Coombs) positiva, probablemente relacionada con la adsorción inespecífica de proteínas plasmáticas. Estos casos difieren de los debidos a la penicilina en que la hemólisis se produce después de la administración del fármaco en dosis terapéuticas.

Serológicamente, estos anticuerpos se detectan empleando células previamente sensibilizadas con el fármaco, y la reacción con ellas puede ser inhibida mediante la adición de un exceso de antígeno en la solución (fig. 34.6b). Aunque se han descrito algunos casos de trombocitopenia inducida por penicilina y azlocilina[72], el mecanismo de adsorción no ha sido todavía claramente demostrado en ningún caso y se ha llegado a cuestionar su validez. Algunos de los interrogantes que plantea el mecanismo de adsorción se basan en las observaciones siguientes: *a*) la penicilina y sus derivados son altamente inmunogénicos y, sin embargo, esta complicación sólo se observa en un reducido porcentaje de pacientes; *b*) tras la administración de penicilina intravenosa en dosis altas a un individuo previamente sensibilizado cabría esperar que ésta no sólo se fijara a la membrana eritrocitaria, como habitualmente sucede, sino también a la de las plaquetas y leucocitos y a las proteínas plasmáticas; *c*) no se produce activación del complemento, como cabría esperar en una lesión en la que intervienen directamente los IC; *d*) a diferencia de la actividad hemaglutinante de los anticuerpos de pacientes sin hemólisis inmune, que puede ser inhibida tratando previamente el suero con penicilina, la de los pacientes con hemólisis inmune no se inhibe con el fármaco, y *e*) igualmente, el tratamiento previo con el fármaco no es capaz de inhibir la fijación a hematíes normales (previamente recubiertos con penicilina), de los eluidos procedentes de pacientes con hemólisis inmune por penicilina.

En conjunto, estas observaciones sugieren que solamente los anticuerpos que reaccionan de manera dependiente del fármaco (no inhibible) son, fundamentalmente, los responsables de la destrucción celular. Igualmente, el tipo de unión que se establece entre el fármaco y la célula diana no condiciona la reactividad y especificidad del anticuerpo resultante ni el tipo de reacción inmune.

Mecanismo autoinmune

Fue originalmente descrito para explicar las anemias hemolíticas autoinmunes producidas por α-metildopa. En este caso, se supone que ciertos fármacos tienen la capacidad de desencadenar una respuesta inmune en el curso de la cual se generan autoanticuerpos indistinguibles de los que aparecen en las citopenias autoinmunes (fig. 34.6c). La sospecha de que el fármaco es responsable de la autoinmunidad detectada se basa, exclusivamente, en la coincidencia temporal del mismo con los autoanticuerpos. Aproximadamente el 15% de pacientes que reciben α-metildopa durante varios meses acaban por presentar una prueba de la antiglobulina directa positiva por anticuerpos de clase IgG, pero, de ellos, sólo el 1% desarrolla una anemia hemolítica autoinmune completa. Lógicamente, estos anticuerpos son independientes del fármaco, pero el mecanismo íntimo que facilita su aparición no está bien delimitado. Se especula con la posibilidad de que el fármaco produzca cambios en la membrana celular que favorezcan la aparición de neoantígenos con capacidad inmunizante.

Además de la α-metildopa y la levodopa, también se ha asignado este mecanismo de acción a otros fármacos, como ácido valproico, quinidina, acetaminofeno, diclofenaco, sales de oro[72,76-78] y formestano. En algunos de los casos descritos, el fármaco inducía simultáneamente la producción de autoanticuerpos y de anticuerpos dependientes del fármaco.

Mecanismo patogénico unificado

Cada vez es más evidente que las fronteras que separan los tres mecanismos clásicos son inexistentes y que, un mismo fármaco, puede desencadenar la trombocitopenia a través de más de uno de ellos. Por esta razón, se ha postulado la idea de un mecanismo patogénico unitario, según el cual el proceso se iniciaría siempre a partir de la interacción del fármaco y/o sus metabolitos con determinados constituyentes de la membrana celular. Esta interacción conformaría el sustrato antigénico necesario para inducir una respuesta inmune que conllevaría la producción de dos tipos de anticuerpos: dependientes del fármaco o independientes del fármaco[73].

La especificidad de los **anticuerpos dependientes del fármaco** vendría determinada por elementos de ambos componentes, el fármaco y la membrana celular (neoantígeno dependiente del fármaco), los cuales no serían capaces de unirse firmemente a estos componentes por separado. Si uno de ellos es eliminado (por diálisis *in vitro*, por interrupción de la administración del fármaco o por la excreción del mismo *in vivo*), la reacción inmune tiende a desaparecer.

Los **anticuerpos independientes del fármaco** se producirían a partir de una leve alteración de la membrana celular, inducida por el fármaco, que daría lugar a un nuevo antígeno con capacidad para desencadenar la reacción autoinmune. Los determinantes antigénicos reconocidos por estos anticuerpos serían muy similares a los que se hallan presentes en las células de los individuos sanos no tratados con el fármaco, o bien incluirían otros determinantes antigénicos comunes a todas las células. Sólo así es posible explicar la capacidad de reacción de estos anticuerpos, no sólo con las plaquetas del paciente sino con todas las plaquetas procedentes de individuos sanos (neoantígeno independiente del fármaco). Estos anticuerpos se comportan, a nivel serológico, como «verdaderos» autoanticuerpos.

Esta visión unitaria del mecanismo patogénico de las TIF, aunque hipotética, responde de forma más coherente a los numerosos casos en los que se advierte un cuadro clínico mixto que, probablemente, resulta de un mecanismo de acción heterogéneo o, en otras palabras, explica la frecuente y a menudo transitoria observación de anticuerpos dependientes del fármaco y/o independientes del fármaco en un mismo paciente[74].

Manifestaciones clínicas y diagnóstico

Desde el punto de vista clínico, los elementos característicos de las TIF son la **diátesis hemorrágica** asociada a **trombocitopenia**. Generalmente, la trombocitopenia aparece de forma súbita, pero cuando predomina un mecanismo patogénico autoinmune, el inicio puede ser más insidioso. En los pacientes previamente sensibilizados, la ingestión del fármaco puede suponer la aparición de fiebre, escalofríos y eritema. En el curso de pocas horas se añade una púrpura petequial cutaneomucosa y hematomas. En los casos más graves, puede sumarse una hemorragia digestiva y/o del tracto urinario. De forma aislada, se ha referido hemorragia pulmonar masiva. La hemorragia intracraneal es excepcional, pero, potencialmente, puede presentarse en la fase más aguda[74].

En raras ocasiones, la TIF puede ir acompañada de **leucopenia** inducida por el mismo fármaco (como se ha referido con la quinidina, cimetidina, benoxaprofeno, sulindac y penicilina) o de **anemia hemolítica** inmune (como en el caso del paracetamol, febrazona y penicilina)[72]. En esta situación,

el cuadro clínico puede quedar enmascarado por los síntomas concomitantes propios de la leucopenia o de la anemia.

La **supresión del fármaco** comporta, la mayoría de las veces, la progresiva desaparición de la diátesis hemorrágica y la normalización de la cifra de plaquetas, entre uno y tres días después de cesar la medicación, dependiendo de la velocidad con la que el fármaco es excretado y/o metabolizado. Con algunos fármacos, como quinina y quinidina, puede haber una recuperación más lenta de las plaquetas que alcanza, en ocasiones, las 2 semanas. En las TIF de mecanismo autoinmune, la trombocitopenia puede persistir durante largos períodos de tiempo.

Aunque en la mayoría de los pacientes se observa una relación evidente entre la administración del fármaco y la aparición de la trombocitopenia, el **diagnóstico** de una TIF es complejo y requiere tres criterios básicos: una historia clínica consistente, la exclusión de otras causas de trombocitopenia y la confirmación del agente causante[74].

Es importante interrogar al enfermo en torno a los **fármacos que recibe** o ha estado recibiendo en el curso de los últimos meses, así como acerca de la frecuencia y dosis precisa de cada uno de ellos. Muchos pacientes, involuntariamente o por prejuicios sociales, omiten referir la ingesta de ciertos fármacos psicotrópicos, por lo que debe efectuarse un interrogatorio dirigido en este sentido. La quinina suele ser ingrediente de algunas bebidas refrescantes, y puede utilizarse como adulterante de ciertas drogas, por lo que también deben contemplarse estas posibilidades. En la tabla 34.6 se exponen los fármacos que con mayor frecuencia se relacionan con la TIF.

Cuando el paciente ya está sensibilizado al fármaco, el cuadro clínico aparece de forma inmediata –**respuesta inmune secundaria**–, pero, si se trata del primer contacto, se requiere un período de 5 a 7 días –**respuesta inmune primaria**–, para que se desarrollen las primeras manifestaciones clínicas[74]. La aparición progresiva y la recuperación más lenta de la trombocitopenia son indicativas de un mecanismo patogénico autoinmune. Un caso especial en la secuencia administración del fármaco-aparición de la trombocitopenia es la trombocitopenia inducida por determinados agentes antitrombóticos (abciximab, eptifibatida, tirofibán), inhibidores de la fijación del fibrinógeno al complejo GPIIb-IIIa, que producen una trombocitopenia inmediata. Curiosamente, la mayoría de pacientes no han estado previamente expuestos a estos fármacos, lo que hace suponer que, probablemente, son portadores de anticuerpos naturales dirigidos contra los epítopes, cuya exposición es inducida por el propio fármaco, a la manera de la acción desarrollada por los anticuerpos dirigidos contra antígenos crípticos responsables de las seudotrombocitopenias dependientes de EDTA.

Todas las causas que pueden determinar una trombocitopenia de estas características deben de ser consideradas en el **diagnóstico diferencial**, destacando, por su frecuencia, las relacionadas con procesos infecciosos, hiperesplenismo, coagulopatías, neoplasias y trombocitopenias inmunes primarias o asociadas a enfermedades sistémicas.

Cuando puede establecerse una relación causal entre la ingesta del fármaco y la trombocitopenia, a través de un nuevo episodio, o bien mediante la demostración *in vitro* de **anticuerpos antiplaquetarios inducidos por el fármaco**, el diagnóstico definitivo se ha establecido. Sin embargo, las razones éticas naturales hacen inviable la administración del fármaco para evidenciar su papel como agente causal de la trombocitopenia, y solamente la aparición de un nuevo cuadro motivado por la administración inconsciente del mismo, por parte del paciente, puede contribuir a confirmar el diagnóstico. Los estudios *in vitro*, incluso empleando las técnicas más sofisticadas, no permiten confirmar más allá del 5% de casos sospechosos[72]. Probablemente, este reducido porcentaje podría incrementarse si se investigaran exhaustivamente todos los fármacos administrados al paciente y, además, se generalizaran los estudios serológicos con metabolitos de los presuntos agentes causantes.

TABLA 34.6

Fármacos causantes de trombocitopenia por mecanismo inmune

Quinina Quinidina Heparina Sales de oro	
Ácido acetilsalicílico	Difenilhidantoína
Ácido valproico	Digitoxina
Actinomicina	Fenoprofeno
α-Metildopa	Furosemida
Amrinona	Hidroclorotiacida
Arsenicales	Indometacina
Bleomicina	Interferón
Cimetidina	Metamizol
Cloroquina	Ranitidina
Clorotiacida	Rifampicina
Danazol	Sulfamidas
	Sulindaco

Tratamiento

El aspecto más importante es la supresión del fármaco cuando existe una firme sospecha de su responsabilidad[74]. Dado que, potencialmente, cualquier sustancia es susceptible de determinar la aparición de trombocitopenia, es conveniente suprimir toda la medicación a la que esté sometido el paciente o sustituirla por otra de igual efecto terapéutico pero de composición química diferente.

Otras medidas pueden incluir la administración de corticosteroides, en dosis de 0,5-2,0 mg/kg/día, y, en las formas más graves, inmunoglobulinas en dosis altas. Éstas están especialmente indicadas en los casos de mecanismo autoinmune, en dosis de 0,5 g/kg/día durante 5 días, o bien, de 1 g/kg/día, durante 2 días. En las formas graves, también están indicados el recambio plasmático y las transfusiones de plaquetas.

Es importante advertir al paciente de los riesgos que corre si vuelve a medicarse con el fármaco causante del proceso, para evitar la aparición de un nuevo y, probablemente, más grave episodio de trombocitopenia.

Trombocitopenia cíclica periférica

La trombocitopenia cíclica es una enfermedad infrecuente caracterizada por fluctuaciones regulares de los valores de plaquetas, desde trombocitopenias extremas hasta trombocitosis[79].

La **manifestación clínica** característica es una diátesis hemorrágica que aparece en la fase de trombocitopenia y

cesa con la recuperación de las cifras de plaquetas. Las oscilaciones acontecen sincrónicamente con la menstruación, con ciclos de entre 20 y 40 días. En algunas pacientes, las cifras más bajas de plaquetas se detectan en la mitad del ciclo mientras que, en otras, ocurre a la inversa. Aún más raramente se han descrito trombocitopenias cíclicas en hombres, o en mujeres sin relación con el ciclo menstrual, que generalmente son de causa central.

El **mecanismo patogénico** de la trombocitopenia cíclica es una destrucción inmune también cíclica de las plaquetas, con marcada disminución de la supervivencia plaquetaria en la fase trombocitopénica y valores prácticamente normales en la fase normoplaquetaria. Estos datos, junto con la positividad de los AAP y la normalidad de los megacariocitos durante todo el ciclo, permiten afirmar que la trombocitopenia se produce por un mecanismo inmune periférico mediado por AAP[28,80,81]. Para explicar la presentación cíclica de la trombocitopenia autoinmune existen diversas teorías, entre ellas la fluctuación de la actividad del receptor FcRIIγ de los macrófagos influida por los cambios hormonales del ciclo menstrual.

No existe **tratamiento** específico efectivo para la trombocitopenia cíclica[28,79,80]; no se han reportado resultados satisfactorios con corticosteroides, esplenectomía ni alcaloides de la vinca. Otros tratamientos han dado resultados irregulares o respuestas transitorias, entre ellos, estrógenos sintéticos, danazol, azatioprina y ciclosporina. Las gammaglobulinas en dosis altas no parecen ser eficaces, pero pueden retrasar la aparición de la fase de trombocitopenia.

Seudotrombocitopenia inmune

Las plaquetas gigantes y los agregados plaquetarios son dos causas reconocidas para la infravaloración de las plaquetas en los recuentos automatizados, que dan lugar a una falsa trombocitopenia o seudotrombocitopenia (v. «Recuentos de plaquetas y morfología plaquetaria al microscopio»). La formación de agregados se debe, generalmente, a la presencia de un tipo particular de anticuerpos antiplaquetarios, los **criptoanticuerpos**, que únicamente se manifiestan *in vitro*. Los criptoanticuerpos van dirigidos contra antígenos plaquetarios que no se encuentran expuestos *in vivo*: los **criptoantígenos**. La activación de las plaquetas, el descenso de la temperatura o el contacto con determinadas sustancias, entre otras causas, provocan cambios en la conformación de la membrana plaquetaria que se traducen en la exposición de los criptoantígenos[81].

Los anticuerpos **dependientes de EDTA**, de presentación bastante frecuente, son capaces de reaccionar con criptoantígenos plaquetarios que resultan expuestos *in vitro* gracias al contacto con el anticoagulante EDTA o con su análogo EGTA. La quelación del Ca^{++} debida a la acción del anticoagulante es la responsable de la disociación del complejo GPIIb-IIIa, y conlleva cambios que favorecen la exposición de determinantes antigénicos previamente ocultos. Más raramente se han descrito anticuerpos **dependientes de PFA** que, al parecer, también actúan sobre el complejo GPIIb-IIIa, y ocasionales casos de anticuerpos mixtos, dependientes de EDTA-PFA. Con frecuencia similar, o incluso superior, los anticuerpos contra criptoantígenos plaquetarios son **aglutininas frías**, con la propiedad de aglutinar las plaquetas *in vitro* a bajas temperaturas. Las aglutininas frías puras son capaces de aglutinar independientemente del anticoagulante utilizado, pero existen otras con cierto carácter dependiente de EDTA. Las inmunoglobulinas de clase IgM, solas o asociadas con las de otras clases, se detectan con una frecuencia superior en la seudotrombocitopenia, especialmente en el caso de las aglutininas frías.

La seudotrombocitopenia inmune debe de sospecharse cuando existe una discrepancia clara entre la ausencia de diátesis hemorrágica y la disminución del recuento de plaquetas[7,81]. El primer paso para el **diagnóstico** consiste en examinar el frotis sanguíneo al microscopio para observar la presencia de **agregados plaquetarios** (fig. 34.1b). En ocasiones, las plaquetas tienden a agregarse alrededor de los neutrófilos (ocasionalmente de los linfocitos o de otras células), formando rosetas, en el fenómeno llamado **satelitismo plaquetario**. Un nuevo **recuento de plaquetas** en una muestra anticoagulada con citrato o heparina, en vez de EDTA, suele ser suficiente para poner en evidencia una seudotrombocitopenia dependiente de EDTA. Para determinar la existencia de aglutininas frías es de gran utilidad la realización de un recuento de plaquetas a partir de una muestra obtenida a 37 °C y mantenida a esta temperatura hasta su procesamiento. En los casos en que la aglutinina es muy potente, el recuento en cámara de una muestra recogida por punción digital, tras haber mantenido el dedo unos minutos antes a 37 °C, puede constituir el único método para obtener el número de plaquetas real.

Los criptoanticuerpos, por sí mismos, no parecen tener **trascendencia clínica**, ya que no están implicados en la destrucción plaquetaria *in vivo* y, por el contrario, se supone que podrían surgir como resultado de esta destrucción con objeto de intervenir en la eliminación de las plaquetas lesionadas, fragmentadas o, simplemente, viejas. Aunque su presencia no es específica de ninguna enfermedad y pueden estar presentes en personas sanas, lo cierto es que se detectan con una frecuencia superior en algunos procesos tales como PTAI, síndromes mielodisplásicos, toxemia del embarazo, sepsis, infección por el VIH y síndrome antifosfolípido. Asimismo, los criptoanticuerpos pueden detectarse en diferentes miembros de una misma familia, en los que, además, pueden coexistir otros procesos de naturaleza inmune, lo cual sugiere que, en algunos casos, los anticuerpos son la expresión de un fenómeno autoinmune más generalizado.

Trombocitopenias aloinmunes

Los sistemas de grupo sanguíneo plaquetario (sistemas HPA) son responsables de una serie de síndromes de naturaleza aloinmune entre los que destacan la trombocitopenia neonatal aloinmune y la púrpura postransfusional, y de forma menos relevante la refractariedad inmune a las transfusiones de plaquetas. Aunque es poco habitual, también pueden intervenir en las reacciones transfusionales de tipo febril. En los últimos años, se han añadido dos nuevos procesos de naturaleza aloinmune: la trombocitopenia aloinmune pasiva y la trombocitopenia asociada al trasplante. Capítulo aparte merecen los diferentes estudios que, en los últimos años, se han venido realizando para intentar relacionar algunos de estos polimorfismos con el riesgo genético de sufrir diferentes enfermedades y, muy especialmente, con la enfermedad tromboembólica.

Trombocitopenia fetal/neonatal aloinmune

La trombocitopenia fetal/neonatal aloinmune (TFNA) está considerada en la actualidad la causa más común de trom-

bocitopenia en el recién nacido con una frecuencia aproximada de 1 caso cada 800-1.000 recién nacidos[82-84]. Se produce como consecuencia de la destrucción de las plaquetas fetales/neonatales, inducida por un aloanticuerpo plaquetario presente en el suero materno y dirigido contra un antígeno plaquetario específico fetal heredado del padre.

Se trata de un proceso potencialmente muy grave que comporta el desarrollo de hemorragia cerebral en el 10-30% de los neonatos con resultado de *exitus* (10% de los casos comunicados) o de secuelas neurológicas irreversibles (20%). Cerca del 50% de las hemorragias se producen durante la vida intrauterina, habitualmente entre las 30 y 35 semanas de gestación pero, a veces, tan prematuramente como a las 20 semanas de gestación. En algunos casos poco comunes, la forma de presentación puede coincidir con una hidrocefalia aislada, una anemia fetal de causa no explicada, abortos recurrentes e incluso un *hidrops fetalis*[85].

El diagnóstico exige excluir otras causas de trombocitopenia neonatal: infecciones víricas o bacterianas, coagulopatía de consumo, trastornos de la megacariocitopoyesis, hemangioma y, especialmente, autoinmunidad materna (PTAI, lupus). En los casos más característicos se trata de un neonato nacido de una madre sana no trombocitopénica en la que tanto la gestación como el parto han transcurrido sin complicaciones. Al nacer, o pocas horas después, aparece en el neonato una púrpura cutánea en forma de petequias y/o equimosis, que puede ir acompañada en los casos más graves de hematuria, hemorragia digestiva e, incluso, hemorragia intracraneal. La cifra de plaquetas es variable ($< 20 \times 10^9$/L en las formas más graves), y con tendencia a disminuir en las primeras 24-72 horas de vida. Por otra parte, suele tratarse de un neonato sano que no presenta otras alteraciones biológicas destacables[82,84].

En muchos casos, puede tratarse de un neonato totalmente asintomático en el que la trombocitopenia se descubre de forma casual en una analítica solicitada por otras causas.

El diagnóstico clínico debe ir acompañado de un estudio serológico que tiene como objetivo demostrar la presencia de un aloanticuerpo plaquetario específico en el suero materno o, en su defecto, poner en evidencia la existencia de una incompatibilidad antigénica maternofetal. Este estudio debe incluir la detección e identificación de aloanticuerpos plaquetarios específicos en el suero materno y el genotipo plaquetario de los padres y, siempre que sea posible, el del recién nacido. El estudio del suero de la madre frente a plaquetas del padre es fundamental para excluir una especificidad privada, especialmente cuando se han descartado los aloanticuerpos más habituales.

Los anticuerpos de especificidad HPA-1a son responsables del 75-85% de casos diagnosticados clínicamente, seguido de los de especificidad HPA-5b (10% de casos)[86]. Las complicaciones hemorrágicas y el riesgo de hemorragia cerebral son más frecuentes en los casos de incompatibilidad HPA-1a. Los casos debidos a anticuerpos anti-HPA-5b suelen producir una trombocitopenia más moderada y con escasa o nula repercusión clínica[87]. Aunque infrecuentes (< 1%), los casos debidos a anticuerpos anti-HPA-3a muestran unas características clínicas y una gravedad similares a los producidos por anti-HPA-1a[88]. En Japón, donde la mayoría de individuos son HPA-1a positivos, los anticuerpos anti-HPA-4b son los que con mayor frecuencia están implicados en esta patología[89]. Aunque infrecuentes, dos casos de TFNA producidos por anticuerpos de especificidad anti-HPA4b han sido descritos en la población caucásica, uno de ellos en España[90].

A pesar de los avances tecnológicos, el diagnóstico de la TFNA sigue constituyendo un reto, ya que los anticuerpos responsables continúan siendo indetectables en un número significativo de casos, incluso en aquellos en los que la incompatibilidad maternofetal para el antígeno HPA-1a es evidente. Probablemente, algunos de estos casos en los que no se detectan aloanticuerpos plaquetarios pueden ser debidos a especificidades todavía no conocidas. Recientemente, en algunas mujeres que habían inducido una TFNA sin diagnóstico serológico evidente, han sido retrospectivamente detectados anticuerpos dirigidos contra los antígenos del sistema HPA-15 (Gov). A la descripción efectuada por Kelton et al[91] en 1990 de este nuevo sistema, le siguió 5 años más tarde la publicación por Bordin et al[92] de los tres primeros casos de TFNA inducidos por un anti-HPA-15b (anti-Gov^a) y por dos anti-HPA-15^a (anti-Gov^b), respectivamente. Más recientemente, Berry et al[93] detectan en un estudio retrospectivo la presencia de anticuerpos anti-HPA-15 en 3 de los 305 casos de TFNA examinados (1%). En algunas mujeres ha podido demostrarse la presencia del aloanticuerpo plaquetario algunas semanas e, incluso, algunos meses después del parto. Cuando el diagnóstico clínico resulta evidente, pero la investigación de aloanticuerpos plaquetarios resulta negativa, el hallazgo de una incompatibilidad antigénica maternofetal puede ayudar a confirmar el diagnóstico.

La aloinmunización HPA-1a de las gestantes HPA-1a negativo está controlada por el alelo HLA-DRB3'0101[94] con el que se encuentra en desequilibrio de ligamiento. El valor predictivo negativo de aloinmunización en ausencia de este alelo es superior al 90%; por el contrario, el valor predictivo positivo es sólo del 35%, lo que limita la utilización de este alelo para la selección de las mujeres candidatas a un programa profiláctico antenatal[95]. Aproximadamente el 10% de las mujeres HPA-1a negativo desarrollan un anti-HPA-1a, y cerca del 30% de éstas acaban teniendo un hijo afectado. No se ha descrito un desequilibrio de ligamiento tan evidente con el resto de aloantígenos plaquetarios específicos.

No es prudente esperar al resultado del estudio serológico para comenzar a tratar al neonato. Ante la sospecha clínica firme de TFNA, debe iniciarse el tratamiento sin dilación. Los casos que cursan con trombocitopenia extrema ($< 20 \times 10^9$/L) y diátesis hemorrágica grave son subsidiarios de una transfusión de plaquetas de donante único con fenotipo HPA compatible. Se recomienda que, además, el donante sea ABO y Rh(D) compatible y, si se ignora la especificidad involucrada, HPA-1a y HPA-5b negativo[96,97]. Unas plaquetas con estas características fenotípicas serían compatibles con el suero materno en el 95% de los casos. Los centros de transfusión y bancos de sangre conectados con los servicios hospitalarios que atienden estos casos deberían de mantener un registro de donantes genotipados para estos sistemas plaquetarios, con el fin de proveer plaquetas compatibles, en el menor tiempo posible, cuando sea necesario.

La transfusión de plaquetas maternas representa una opción frente a la falta de disponibilidad de plaquetas compatibles, pero en la práctica suele ser muy compleja la realización de una aféresis en una mujer que acarrea, junto a los problemas físicos propios del parto, el impacto emocional de la complicación detectada en el neonato. No obstante, si lle-

gan a emplearse, las plaquetas deben ser lavadas y resuspendidas en una nueva solución.

Las inmunoglobulinas por vía intravenosa en dosis altas (1 g/kg/día, 2 días) constituyen un tratamiento complementario que consigue remontar en pocos días la cifra de plaquetas hasta niveles de seguridad (> 50 × 10^9/L), en la mayoría de los casos. En ausencia de plaquetas de fenotipo compatible, y en los casos menos graves, constituyen el tratamiento de elección.

La probabilidad de recurrencia de la TFNA en las siguientes gestaciones es muy elevada, hasta del 100% si en la gestación anterior se produjo hemorragia cerebral[83,89]. Todavía no se ha establecido un protocolo de consenso, aunque la tendencia es la de mantener la actitud menos invasiva posible. Básicamente, existen dos modalidades de tratamiento consistentes en: las transfusiones intraútero de plaquetas HPA compatibles a intervalos regulares, o bien la administración a la madre de IgG i.v. y/o corticoides. Dado que no se ha realizado ningún estudio comparativo aleatorizado, no existe evidencia firme de cuál debería de ser el tratamiento de elección. Curiosamente, la primera opción es defendida y aplicada en los centros hospitalarios europeos, mientras que la segunda representa la opción escogida y sistemáticamente aplicada en los centros hospitalarios de los Estados Unidos. Ambos tratamientos plantean ventajas e inconvenientes. La técnica de cordocentesis, que se efectúa tanto para obtener una muestra de sangre fetal como para infundir las plaquetas, es una técnica invasiva que puede suponer en manos expertas un riesgo de interrupción de embarazo del 1-3%. Sin embargo, es la única estrategia que permite una valoración objetiva e inmediata de la eficacia del tratamiento[98]. Las IgG i.v. en dosis altas representan una opción no invasiva pero muy cara, y no totalmente exenta de riesgos. Además, la falta de un grupo control en las series más optimistas no permite asegurar que la eficacia del tratamiento sea indefectiblemente debida a su acción terapéutica[99,100]. La infusión directa de IgG i.v. al feto fue probada con éxito en un caso, pero su eficacia no ha sido confirmada por otros grupos.

Menos clara todavía es la estrategia antenatal que se debe seguir con las mujeres que produjeron una TFNA moderada y sin complicaciones hemorrágicas mayores, o los casos que podrían detectarse en el curso de un programa de cribado de gestantes HPA-1a negativo. En estas situaciones, se impone una actitud conservadora mientras no se conozcan los factores que pueden predecir una evolución grave de la trombocitopenia. Sería aceptable practicar una cordocentesis entre las 26-30 semanas de gestación, que permitiera intervenir, si fuera necesario, y/o planificar la estrategia más adecuada para el parto.

Hasta en el 30% de casos, la TFNA se produce en la primera gestación, motivo por el que se discute la conveniencia de aplicar un programa profiláctico antenatal en las gestantes HPA-1a negativo, a la manera del que se sigue con las gestantes Rh(D) negativo. En los últimos años, se han realizado múltiples estudios prospectivos con el objetivo de delimitar el problema y, entre todos ellos, destaca el efectuado por Williamson[83] en el que se demuestra, tras el cribado de cerca de 25.000 gestaciones consecutivas, que el porcentaje de gestantes HPA-1a negativo es del 2,5% en el Reino Unido, que la aloinmunización HPA-1a complica uno de cada 350 embarazos al azar y que ésta es la causa de una trombocitopenia grave en uno de cada 1.200 neonatos. La magnitud del problema justificaría la implantación de un programa profiláctico, pero no existen estudios aleatorizados que demuestren que el cribado sistemático y el tratamiento antenatal reducen la morbilidad y la mortalidad de los fetos/neonatos de forma significativa y, por supuesto, coste-efectiva. Además, para justificar la implantación de un programa de cribado, es necesario que se que conozca mejor cuál es la evolución de los neonatos afectados, que se identifiquen los factores que pueden ayudar a predecir los casos más graves y, sobre todo, que se haya consensuado el tratamiento antenatal de elección en las mujeres aloinmunizadas pero sin historia previa de TFNA grave. Para ello, hace falta que se lleven a cabo más y más amplios estudios del efecto del cribado antenatal sobre la evolución de la TFNA y que, al mismo tiempo, permitan recabar los datos clínicos más relevantes que puedan ayudar a determinar los factores predictivos de gravedad y la estrategia terapéutica antenatal más adecuada.

Púrpura postransfusional

La púrpura postransfusional (PPT) es una grave complicación de la transfusión sanguínea, caracterizada por la aparición de una trombocitopenia aguda grave, acompañada de diátesis hemorrágica, aproximadamente una semana después de la transfusión de cualquier componente sanguíneo[101-103]. La hemorragia intracraneal es la manifestación hemorrágica más temida, especialmente en las primeras 24-28 horas. Aunque se desconoce la incidencia real de esta complicación, alguno de los programas de hemovigilancia europeos la han estimado en sus informes anuales en alrededor del 5% del total de efectos adversos de la transfusión.

La patogenia exacta de este proceso no ha sido totalmente dilucidada. Un mínimo de tres teorías han sido propuestas para intentar explicar el curioso y paradójico fenómeno por el que se produce la destrucción autóloga de las plaquetas del propio paciente. Shulman[104] propuso, en 1961, que los inmunocomplejos que resultan tras la reacción antígeno-anticuerpo se fijarían secundariamente a las plaquetas del paciente conduciéndolas a la destrucción. Kickler[105] sugirió la posibilidad de que antígenos HPA-1a solubles se fijaran a las plaquetas del paciente, convirtiéndolas en víctimas de la destrucción autóloga. Finalmente, Mueller-Eckhardt[101] propuso la teoría actualmente más aceptada, según la cual la PPT se produciría como consecuencia del fenómeno llamado de «seudoespecificidad»; en el curso de la reacción anamnésica aloinmune que sufre el paciente se generaría un anticuerpo con capacidad para reconocer ciertos determinantes de las plaquetas autólogas, hasta que éste adquiriera la especificidad restringida HPA-1a que le corresponde. La posibilidad de eluir el aloanticuerpo de las plaquetas del paciente durante la fase aguda del problema aboga por esta teoría.

Todos los pacientes, la mayoría mujeres en la sexta o séptima décadas de la vida y con antecedentes de una o más gestaciones, están preinmunizados. Los aloanticuerpos plaquetarios, mayoritariamente los de especificidad HPA-1a (> 85%), se detectan en el suero de los pacientes (y fijados a sus propias plaquetas durante la fase aguda) con fenotipo HPA-1a negativo y HLA-DRB3'0101[101].

El tratamiento actual de elección son también las IgG i.v. y, en casos muy graves, el recambio plasmático[101]. La transfusión de plaquetas compatibles resulta inefectiva. Tras la recuperación, no suele repetirse esta complicación, incluso transfundiendo componentes incompatibles y a pesar de persistir el aloanticuerpo en el suero del paciente.

Refractariedad inmune a las transfusiones de plaquetas

La gran mayoría de casos de refractariedad a las transfusiones de plaquetas que actualmente se observan no obedecen a causas inmunológicas[106]. No obstante, algunos pacientes que se sensibilizan frente a antígenos plaquetarios pueden desarrollar una refractariedad de naturaleza inmune. En estos casos, los anticuerpos implicados suelen ser los de especificidad HLA de clase I. La incidencia de aloinmunización HPA se ha estimado entre el 2 y el 20%[107,108], pero en los estudios en los que la incidencia es más elevada se observa una falta de definición en la especificidad de los anticuerpos detectados, ya que muchos se comportan como panreactivos y podrían, en realidad, corresponder a autoanticuerpos. En los últimos estudios publicados, en los que se han empleado las técnicas de estudio más adecuadas y los criterios de interpretación de los resultados más rigurosos, se reportan índices inferiores más próximos a la realidad (3,8-8%)[109,110]. En la mayoría de casos, se detectan combinados con anticuerpos HLA, pero, en ocasiones, pueden detectarse aislados. Las especificidades más comunes son anti-HPA-1b y anti-HPA-5b.

Trombocitopenia aloinmune pasiva

La trombocitopenia aloinmune pasiva (TAP) se caracteriza por la aparición brusca de trombocitopenia pocas horas después de la transfusión de un producto sanguíneo. Se produce por la acción de aloanticuerpos plaquetarios específicos, presentes en el producto transfundido[111-113]. Hasta el momento, los casos publicados corresponden a aloanticuerpos de especificidad HPA-1a y HPA-5b.

Cuatro referencias bibliográficas recogen un total de siete pacientes afectados que desarrollaron una trombocitopenia grave (cifra media de plaquetas 10×10^9/L) acompañada de diátesis hemorrágica en cinco de los siete pacientes tras la transfusión de concentrados de hematíes (n = 3), sangre total (n = 3) y plasma (n = 1) conteniendo un anticuerpo de especificidad HPA-1a. En otro caso reportado[113], el paciente desarrolló una trombocitopenia moderada tras la infusión postoperatoria de plasma que transportaba un anticuerpo de especificidad HPA-5b.

La duración de la TAP suele ser inferior a una semana, en contraste con la larga duración de la PPT. Es importante investigar los casos sospechosos de TAP, porque múltiples receptores pueden desarrollar esta complicación inducida por un solo donante[111] que, lógicamente, debe ser excluido para futuras donaciones.

Trombocitopenia aloinmune asociada con trasplante de progenitores hematopoyéticos

Aunque poco frecuente, una trombocitopenia de naturaleza aloinmune puede complicar el trasplante de precursores hematopoyéticos (TPH), de médula ósea o de sangre periférica, o el trasplante de órganos sólidos[114,115]. Panzer et al[114] reportaron el caso de un paciente afectado de leucosis mieloide crónica, sometido a trasplante alogénico de médula ósea (TPH) procedente de una hermana de 18 meses: después del TPH presentó una trombocitopenia sintomática grave (17×10^9/L). Los estudios serológicos efectuados permitieron demostrar que el paciente, de fenotipo HPA1a negativo antes del trasplante, había producido un anticuerpo anti-HPA-1a reactivo con las plaquetas HPA-1a positivo del donante. La complicación habría acontecido como consecuencia de una situación de quimera mixta, en la que los linfocitos residuales del receptor habrían sido capaces de inducir una respuesta aloinmune con producción de anticuerpos anti-HPA1a frente a las plaquetas HPA-1a positivo, procedentes de la médula implantada.

Bierling et al[115] describieron el caso de un paciente afectado de leucosis mieloide crónica, trasplantado con una médula procedente de su hermano. El paciente era portador de un anticuerpo de especificidad HPA-5b que produjo una trombocitopenia persistente postrasplante al reaccionar con las plaquetas HPA-5b positivo de la médula implantada.

Resulta especialmente sorprendente el caso de tres pacientes trasplantados de un mismo donante (dos de riñón y uno de hígado) que desarrollaron una grave trombocitopenia entre 5 y 8 días después del trasplante que acabó produciendo el fallecimiento de uno de ellos[116]. Otro de los pacientes requirió una esplenectomía para resolver la trombocitopenia, y el tercero sufrió un rechazo del hígado trasplantado que exigió la realización de un nuevo trasplante, tras el cual recuperó la cifra de plaquetas. La donante resultó ser portadora de anticuerpos anti-HPA-1a, y los tres receptores eran homozigotos para este antígeno. Esta observación apoya la hipótesis de que los aloanticuerpos fueron producidos a partir de linfocitos inmunocompetentes transportados por los órganos trasplantados.

Trombocitopatías adquiridas

Entre las enfermedades asociadas con trombocitopatía cabe destacar la hepatopatía y la insuficiencia renal[117-119]. En ambos casos, la disfunción plaquetaria es de patogénesis compleja, y se asocia con otros trastornos de la hemostasia. En otras situaciones clínicas, o por la administración de determinados fármacos, se desarrollan trombocitopatías secundarias por diferentes mecanismos. También algunos alimentos y aditivos pueden afectar negativamente a la función de las plaquetas.

Trombocitopatía asociada con hepatopatía

En la hepatopatía crónica, se combinan diversas alteraciones hemostáticas: descenso en la síntesis hepática de factores de la coagulación, aumento de la fibrinólisis, trombocitopenia y trombocitopatía[117-119]. Los **mecanismos** responsables de las alteraciones plaquetarias no han sido aún completamente aclarados, aunque se sabe que se relacionan con el grado de insuficiencia hepática. La trombocitopatía es de tipo complejo, y afecta a las funciones de adhesión, agregación y secreción. La reducción cuantitativa de GPIb explicaría el déficit de adhesión, y la disfibrinogenemia y altos títulos de PDF (productos de degradación del fibrinógeno y de la fibrina) explicarían el déficit de agregación por interferir con el complejo GPIIb-IIIa. La trombocitopenia, en general moderada, es debida fundamentalmente a un incremento del secuestro en el bazo junto a cierta disminución de la supervivencia plaquetaria. En fases más avanzadas se afecta la trombocitopoyesis a causa del déficit de folato.

El conjunto de alteraciones plaquetarias favorece la presentación de **hemorragias**, y se refleja en las pruebas complementarias como el tiempo de sangría o el análisis general de la función plaquetaria *in vitro*. Sólo cuando el paciente presente un sangrado activo o precise una intervención quirúrgica, se recomienda aplicar **medidas terapéuticas**[117,120]. En ocasiones, la hemostasia mejora con la simple administración de vitamina K parenteral. La desmopresina obtiene bue-

nos resultados en hemorragias leves, intervenciones menores o biopsias, cuando los tiempos de coagulación y las cifras de plaquetas están próximos a los límites clínicos de seguridad. En cirugía mayor o ante hemorragias graves, suele ser necesaria la administración de plasma fresco congelado e, incluso, de concentrados de plaquetas.

Trombocitopatía asociada con insuficiencia renal

Las frecuentes **manifestaciones hemorrágicas** de la insuficiencia renal y la uremia provienen de un trastorno en la hemostasia primaria de tipo multifactorial, en el cual la disfunción plaquetaria desempeña un papel fundamental[117,118]. Curiosamente, la insuficiencia renal se asocia también con riesgo trombótico a través de un mecanismo de disfunción endotelial[121].

Entre las principales **alteraciones funcionales** descritas en la trombocitopatía urémica, se encuentra un déficit de adhesión a la pared vascular, de naturaleza no clara, la disminución de la agregación plaquetaria atribuida a la presencia de productos metabólicos del plasma no depurados (ácido guanidínsuccínico, fenoles, urea), un déficit de secreción y la reducción del FVW plaquetario. También se han reportado fallos funcionales en la interacción del FVW con la GIIb-IIIa, la cual, en condiciones normales, colabora en el *spreading* o extensión de las plaquetas[122]. La disfunción plaquetaria tiene una clara relación con la anemia, y tiende a mejorar cuando aumenta el hematocrito después de la administración de eritropoyetina. Ello no sólo se produce por los cambios en las condiciones reológicas sanguíneas sino también por un efecto directo de la citocina sobre la función plaquetaria[123].

Las principales **medidas terapéuticas**[117,124] para prevenir las hemorragias son la diálisis y la corrección de la anemia asociada con la insuficiencia renal. Los concentrados de hematíes o, mejor aún, la eritropoyetina humana recombinante, administrada hasta alcanzar un hematocrito superior al 30%, corrige el defecto hemostático y puede prevenir el sangrado ante intervenciones quirúrgicas. En las hemorragias activas o en la profilaxis preoperatoria, es muy recomendable la desmopresina, para aumentar los niveles plasmáticos de multímeros de alto peso molecular del FVW. También se han administrado con éxito los estrógenos conjugados; su mecanismo de acción es desconocido, pero su efecto persiste hasta 3 días después de una dosis única, y hasta 2 semanas, tras infusiones diarias repetidas durante 5 días. Las transfusiones de plaquetas sólo se deben aplicar en condiciones excepcionales, ya que los productos metabólicos retenidos impregnan y devalúan las plaquetas aportadas.

Trombocitopatías asociadas con otras situaciones clínicas

Algunas hemopatías primarias cursan con disfunción plaquetaria asociada con la trombocitopenia, particularmente los **síndromes mielodisplásicos**, debido a la génesis de plaquetas hipofuncionantes por los precursores mieloides anómalos[125]. La deficiencia de gránulos plaquetarios específicos es uno de los elementos que condicionan la disfunción, pero se han descrito también alteraciones en la membrana. En los **síndromes mieloproliferativos crónicos**, fundamentalmente en la trombocitemia esencial y en la policitemia vera, se han descrito alteraciones plaquetarias diversas que, tanto pueden favorecer las hemorragias como las trombosis. En las **gammapatías monoclonales** puede haber una trombocitopatía leve inespecífica debida a la interferencia de la paraproteína con la unión de los ligandos a los receptores celulares, como la afectación ocasional de la unión del fibrinógeno a la GPIIIa. Por otro lado, diversas hemopatías pueden cursar con la enfermedad de Von Willebrand adquirida.

Cuando existe **contacto de la sangre con superficies artificiales**, en intervenciones con circulación extracorpórea, hemodiálisis o colocación de *bypass*, las plaquetas se activan y destruyen y, en consecuencia, se produce trombocitopenia y circulación de plaquetas degranuladas hipofuncionantes. Lo mismo acontece en otras situaciones que cursan con importantes excesos de activación y consumo de plaquetas.

Trombocitopatías inducidas por fármacos y otras sustancias

Al margen de los fármacos antiplaquetarios, indicados para el tratamiento y profilaxis de las trombosis (Capítulo 38), numerosos otros fármacos pueden producir disfunción plaquetaria como efecto secundario[125,126]. Así, existen antiinflamatorios no esteroideos (AINE) –indometacina, ibuprofeno, fenilbutazona–, el uricosúrico sulfinpirazona y el antifúngico miconazol, que **bloquean la vía metabólica del TxA_2** de modo comparable a la aspirina, aunque de forma reversible. Los flavonoides y algunos hipolipemiantes actúan por un mecanismo semejante aunque, en general, se precisan grandes cantidades de ellos para que el efecto sea significativo.

Entre los fármacos cardiovasculares, los nitratos, utilizados en el tratamiento de la angina por su acción vasodilatadora, activan la guanilciclasa y **aumentan el GMP cíclico** plaquetario, con la subsiguiente inhibición funcional de las plaquetas. Se considera que esta acción estaría mediada por la generación de óxido nítrico; las sustancias dadoras de óxido nítrico y el propio gas inhalado producen un efecto semejante. El uricosúrico probenecid y algunos hipotensores –verapamilo, nifedipina– provocan disfunción plaquetaria por **bloqueo de los canales del Ca^{++}**. Otras veces ésta es debida a la acción de los **antagonistas de los receptores α_1-adrenérgicos**.

Algunos antibióticos –penicilinas, cefalosporinas, β-lactámicos– se fijan a la membrana plaquetaria e **inhiben la unión del FVW a su receptor**. Otros medicamentos, como los fibrinolíticos, alteran la agregación por un **mecanismo mixto** (exceso de productos de degradación del fibrinógeno, disminución del propio fibrinógeno y degradación de la GPIb) y los expansores de volumen, como el dextrano, afectan a la función de las plaquetas por adsorción en su superficie. Finalmente, otras sustancias actúan sobre el funcionalismo plaquetario por mecanismos desconocidos, entre ellas el magnesio, el selenio, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA), el tónico venoso naftazona, la cloroquina, la hirudina, el cisplatino, fármacos psicotrópicos, anestésicos y la cocaína, la cual, además, induce trombocitopenia.

Entre los **alimentos** y **aditivos** también existen productos que provocan disfunción plaquetaria. Los aceites de pescado pueden inhibir la agregación y la liberación de ATP, reducir el ácido araquidónico plaquetario y competir con el mismo por la ciclooxigenasa. La cebolla inhibe el metabolismo del ácido araquidónico, incluyendo la síntesis de TxA_2 y la función del receptor del TxA_2/endoperóxidos, y el ajo, además de reducir los lípidos circulantes y la presión sanguínea, afecta negativamente a la unión del fibrinógeno a la GPIIb-IIIa. Algunas especias, como el comino y la cúrcuma, inhiben la agregación y síntesis de eicosanoides, la cafeína aumenta

los niveles de AMP cíclico y el hongo *black tree* de la comida china puede favorecer la presentación de sangrado, lo cual se atribuye a un efecto antiplaquetario[125,127].

PATOLOGÍA PLAQUETARIA GENÉTICA

La patología plaquetaria genética, hereditaria o constitucional, puede cursar con trombocitopenia, con trombocitopatía o con una combinación de ambas alteraciones. Con frecuencia, además, se asocia con patología de otros sistemas[128,129]. Actualmente, sólo se conocen algunas de las mutaciones genéticas responsables de las trombocitopenias/trombocitopatías, y quedan muchas otras aún por identificar. En la práctica, la patología plaquetaria genética (tabla 34.2) se clasifica en los siguientes grandes grupos: *a*) macrotrombocitopenias genéticas sin diátesis hemorrágica valorable; *b*) patología de la adhesión y la agregación; *c*) alteraciones de la actividad procoagulante; *d*) patología de la secreción y la activación; *e*) patología de la trombocitopoyesis; *f*) patologías complejas e inclasificables, y *g*) patología plaquetaria secundaria a alteraciones de otros sistemas.

En el presente capítulo se dedica un apartado a cada uno de los grupos, excepto a la patología de la trombocitopoyesis, que se describe en el Capítulo 14. También se incluye un apartado sobre la profilaxis y tratamiento generales de la trombocitopenia/trombocitopatía genéticas. Finalmente, se aporta un texto dedicado al riesgo de desarrollar algunas enfermedades, especialmente trombóticas, cuando se es portador de determinados antígenos plaquetarios.

Macrotrombocitopenias genéticas sin diátesis hemorrágica valorable

La mayoría de trombocitopenias genéticas con poca afectación de la función plaquetaria cursan con plaquetas gigantes –macrotrombocitopenia– y, a menudo, se asocian con alteraciones extrahematológicas, de las cuales la enfermedad del gen *MYH9* es la más frecuente en nuestro medio y la mejor estudiada. La macrotrombocitopenia aislada, asimismo presente en nuestro medio, también se encuentra incluida en este apartado.

Enfermedad del gen *MYH9*

La asociación de macrotrombocitopenia e inclusiones leucocitarias, conocida como alteración de May-Hegglin o síndrome de Sebastian, no produce manifestaciones hemorrágicas importantes ni predisposición a las infecciones, lo cual es indicativo de que tanto las plaquetas como los leucocitos conservan su capacidad funcional[130-132]. La existencia de plaquetas macrocíticas y gigantes es causa de que, a pesar de la trombocitopenia, no se produzca una reducción en la masa plaquetaria global. En algunos casos, la macrotrombocitopenia se asocia con manifestaciones del síndrome de Alport (hipoacusia neurosensorial, cataratas y nefropatía): en el síndrome de Fechtner también con inclusiones leucocitarias y, en el de Epstein, sin ellas. Recientemente, se han reportado algunos casos de macrotrombocitopenia aislada[133].

En los últimos 5 años se ha descubierto que todos estos síndromes están causados por **mutaciones en el gen *MYH9*** y, por tanto, son variaciones de la misma enfermedad[134]. El gen *MYH9*, localizado en la región cromosómica 22q11-q13, codifica para la cadena pesada 9 de la miosina no muscular A, la cual se encuentra en gran proporción en las plaquetas y en los granulocitos.

El número de **plaquetas** está muy disminuido en los recuentos automáticos, ya que las plaquetas macrocíticas no se identifican como tales[130-132]. En cambio, las cifras microscópicas suelen estar por encima de 50×10^9/L y, con frecuencia, duplican este valor. Por el mismo motivo, los valores de VPM tampoco reflejan el marcado aumento del volumen plaquetario, con valores de 11-15,0 fL o incluso algo menos. Al microscopio óptico se observa macrocitosis plaquetaria generalizada, con escasas plaquetas de tamaño normal y con presencia de un número variable de plaquetas muy grandes, a veces más que hematíes. La forma suele ser redondeada u ovalada, y la granulación, generalmente, normal, aunque puede haber elementos hipogranulados o vacuolados. Es importante destacar que en los frotis confeccionados a partir de sangre anticoagulada con EDTA los tamaños plaquetarios tienden a aumentar y la granulación suele estar menos teñida (v. «Recuentos de plaquetas y morfología plaquetaria al microscopio»). Al estudiar la distribución de la miosina no muscular por inmunofluorescencia, se observa que ésta se distribuye formando un anillo periférico, a diferencia de las plaquetas normales en las que lo hace de forma difusa[133]. Al microscopio electrónico los gránulos α y densos son normales, y el SCA está más desarrollado de lo normal, formando complejos membranosos mixtos con el STD, característicos de la enfermedad. El funcionalismo plaquetario es normal en la mayoría de casos, aunque a veces está alterado en proporción al grado de trombocitopenia. Los megacariocitos muestran una cierta disminución de la ploidía y a nivel ultraestructural presentan, entre otras alteraciones, complejos membranosos similares a los de las plaquetas; se ha sugerido que esto tendría algún papel en la generación de los macrotrombocitos. Los estudios cinéticos de las plaquetas no han demostrado ningún patrón característico.

Las **inclusiones leucocitarias** aparecen como zonas basófilas citoplasmáticas, de aspecto similar a los cuerpos de Döhle con la tinción de May-Grünwald-Giemsa (fig. 34.7) y se encuentran en los neutrófilos, eosinófilos, basófilos y monocitos[130,132]. Por otra parte, los leucocitos son normales, a diferencia de los que muestran cuerpos de Döhle en los que existen otros rasgos morfológicos, como granulación tóxica, hipogranulación o vacuolas. En la alteración de May-Hegglin las inclusiones son más alargadas y con mayor inten-

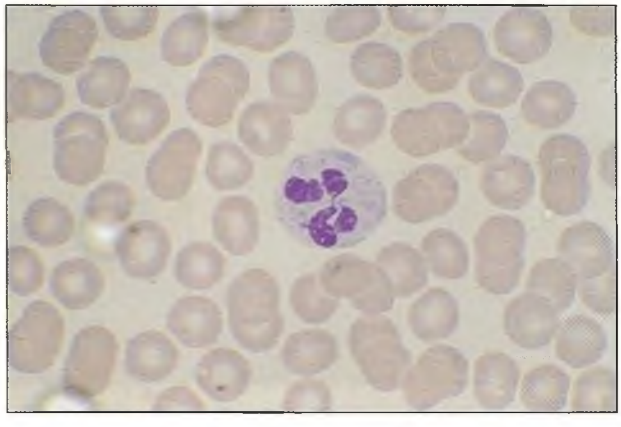


Figura 34.7. Granulocito neutrófilo con una inclusión citoplasmática basófila característica de la alteración de May-Hegglin (May-Grünwald-Giemsa, × 1.000).

sidad tintorial que las descritas en los síndromes de Fechtner y Sebastian en las que, además, son más pequeñas. La miosina no muscular, observada por inmunofluorescencia, se distribuye formando manchas o *spots* en diversos puntos del citoplasma mientras que en los individuos normales muestra una distribución difusa[135]. Vistas al microscopio electrónico, las inclusiones están constituidas por masas de ribosomas y polirribosomas parcialmente rodeadas por segmentos cortos de retículo endoplasmático rugoso[136]. En la alteración de May-Hegglin se observan, además, fibrillas electrondensas paralelas al eje mayor de la inclusión, que no aparecen en los restantes síndromes (fig. 34.8). Recientemente, se han descrito nuevas variantes morfológicas de las inclusiones, entre las que cabe incluir algunas con formación de bandas perpendiculares al eje de la inclusión, y las formadas exclusivamente por agregados ribosómicos.

Las alteraciones del gen *MYH9* no tienen nada que ver con las que se hallan en el síndrome de Alport, en el cual se afectan los genes de las cadenas del colágeno tipo IV. Ello implica que los rasgos clínicos de Alport, presentes en algunos pacientes con enfermedad del gen *MYH9*, son de naturaleza diferente y, por tanto, es preferible utilizar la denominación de **síndrome Alport-*like***. El síndrome definido por Alport en 1927 consistía en una nefropatía familiar, de gravedad superior en los individuos de sexo masculino, con alteraciones características en las membranas basales, hipoacusia neurosensorial, especialmente para los tonos comprendidos entre 2.000 y 8.000 Hz, y alteraciones del cristalino[137,138]. En los síndromes de Fechtner y de Epstein, el síndrome Alport-*like* suele presentar menos alteraciones renales y oculares, y es más frecuente la hipoacusia.

Las diferentes **manifestaciones clínicas** de la enfermedad del gen *MYH9* pueden aparecer en distintos grados dentro de una misma familia, y muestran un patrón de herencia autosómica dominante. En ausencia de los rasgos de síndrome Alport-*like*, no suele haber sintomatología clínica y, si la hay, consiste en diátesis hemorrágica moderada, habitualmente equimosis, epistaxis, menorragias y sangrado provocado por intervenciones quirúrgicas o traumatismos. Las hemorragias obstétricas se caracterizan por su inconstante presentación e irregular intensidad, incluso en los distintos partos de una misma paciente y, en general, no suelen revestir gravedad[139].

Otras macrotrombocitopenias asociadas

La microdeleción del cromosoma 22q11 es la causante del llamado **síndrome velocardiofacial** (VCFS) constituido básicamente por: insuficiencia velofaríngea, malformaciones cardíacas, dificultades de aprendizaje y facies característica (ojos almendrados, alas de la nariz poco desarrolladas, boca pequeña y mandíbula retraída). Además, puede haber otras muy diversas patologías, entre ellas, hendidura palatina, hipoacusia de conducción, riñón poliquístico e hipocalcemia. La macrotrombocitopenia es un hallazgo frecuente en el VCFS y no suele cursar con diátesis hemorrágica, incluso en importantes intervenciones de cirugía cardíaca, necesarias para la corrección de las malformaciones[130,140]. Igual que en la enfermedad del gen *MYH9* los recuentos de plaquetas automáticos infravaloran su número y VPM, y en los recuentos microscópicos se aprecia que la trombocitopenia es moderada, alrededor de 100-130 $\times$ 10^9 plaquetas/L. Las plaquetas son de un tamaño claramente superior al normal, y no muestran alteraciones en la agregometría ni en los estudios de adhesión. Los megacariocitos son normales en número y morfología. La microdeleción del VCFS se encuentra muy cercana al gen de la GPIbα y, por tanto, se considera que estos pacientes son portadores heterozigotos obligados para la deleción de esta GP; incluso se ha descrito algún caso asociado con el síndrome de Bernard-Soulier.

Otras alteraciones genéticas con plaquetas aumentadas de tamaño y escasa disfunción son: la **macrotrombocitopenia asociada con insuficiencia mitral**, en que GP de membrana son antagónicamente normales pero denotan alteraciones funcionales, y una **macrotrombocitopenia con rasgos ultraestructurales peculiares** en la cual se observan plaquetas gigantes que, al microscopio electrónico, presentan desorganización de los microtúbulos, grandes complejos membranosos y vacuolas que contienen orgánulos plaquetarios[130].

Macrotrombocitopenia constitucional aislada

La presencia de plaquetas macrocíticas normofuncionantes, no asociadas con inclusiones ni con otras alteraciones, ha sido descrita y estudiada de forma variable. Existen dos grandes casuísticas sobre este síndrome: la macrotrombocitopenia mediterránea y la trombocitopenia genética de herencia autosómica dominante.

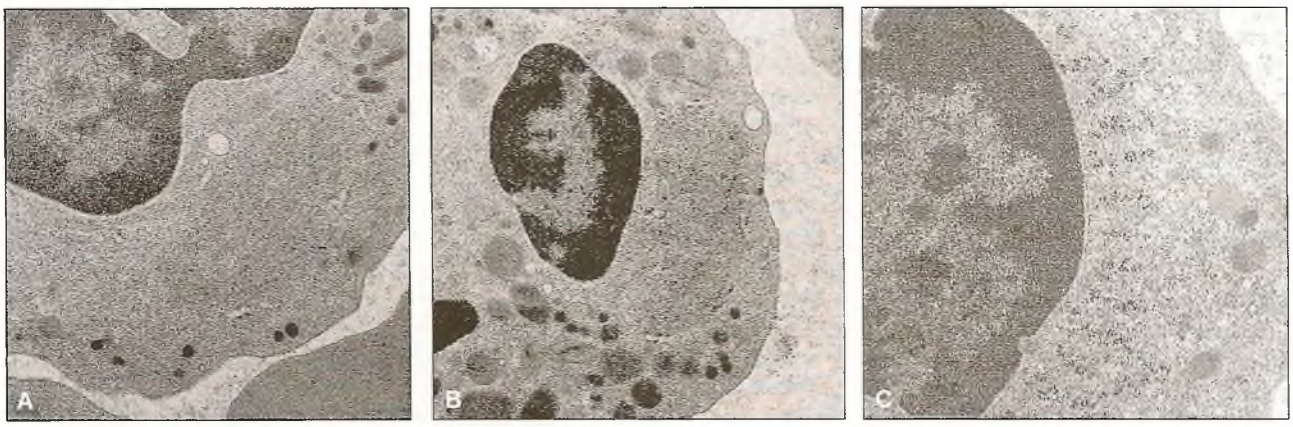


Figura 34.8. Inclusiones leucocitarias en la enfermedad del gen *MYH9*, observadas al microscopio electrónico de transmisión (× 20.000): *a*) alteración de May-Hegglin: se observan cúmulos de ribosomas y las típicas fibrillas paralelas al eje mayor de la inclusión; *b*) síndrome de Sebastian: la inclusión está formada por ribosomas y algún trayecto de retículo endoplasmático rugoso; *c*) síndrome de Fechtner: inclusión constituida por cúmulos de ribosomas dispuestos en bandas perpendiculares al eje mayor de la inclusión.

La llamada **macrotrombocitopenia mediterránea** no ha sido definida como una enfermedad sino como una variante de las plaquetas, propia del área mediterránea, a partir de la observación de que australianos de origen mediterráneo presentaban recuentos plaquetarios inferiores a los considerados normales, fenómeno que no sucedía en los de origen nórdico[130,141]. Se comprobó, además, que los mediterráneos tenían valores superiores de VPM, sin que hubiera diferencias en su distribución lognormal de los volúmenes plaquetarios ni en el plaquetócrito. Mediante estudios de cinética plaquetaria se pudo observar que tanto la masa plaquetaria global como la supervivencia plaquetaria eran normales, a pesar de que había cierto incremento del secuestro plaquetario esplénico.

La **trombocitopenia genética de transmisión autosómica dominante** ha sido identificada como tal en un conjunto de pacientes, previamente diagnosticados de PTAI, que cursaban con supervivencia plaquetaria normal en el estudio cinético[130,142]. Se trata de una macrotrombocitopenia crónica, de herencia autosómica dominante, sin alteraciones funcionales ni inclusiones leucocitarias. Al igual que en las restantes macrotrombocitopenias, el VPM compensa, hasta cierto punto, la disminución en la cifra de plaquetas, por lo que la diátesis hemorrágica suele ser discreta; sólo excepcionalmente se ha descrito alguna hemorragia grave del sistema nervioso central (SNC). Las cifras de plaquetas, los VPM, la morfología de las plaquetas sobre frotis, el funcionalismo plaquetario e, incluso, la microscopia electrónica son similares a los reportados en otras macrotrombocitopenias, incluyendo la presencia de los complejos membranosos característicos de la enfermedad del gen *MYH9*. Un dato que se debe destacar es el hallazgo de un mayor riesgo de hemopatías neoplásicas de tipo mieloide en este proceso.

A diferencia de las macrotrombocitopenias asociadas, en las que la patología extraplaquetaria es de gran utilidad diagnóstica, cuando la macrotrombocitopenia se presenta aislada el **diagnóstico diferencial** con otras trombocitopenias crónicas no es fácil[62,130,143]. En primer lugar, hay que considerar que la patología plaquetaria genética es más frecuente de lo que habitualmente se cree, y, en segundo lugar, hay que evitar la tendencia a considerar como PTAI cualquier trombocitopenia de causa no aclarada. La historia clínica personal y familiar, la valoración de episodios agudos de púrpura y el análisis de los AAP son elementos de gran ayuda para el diagnóstico. Asimismo, la observación cuidadosa del frotis sanguíneo, efectuado sin anticoagulante, determina la existencia de macrotrombocitopenia generalizada, sugestiva de proceso genético, o bien la presencia de ocasionales macrotrombocitos y anisocitosis plaquetaria, más propios de PTAI.

Patología de la adhesión y la agregación

La membrana plaquetaria contiene, entre otros, los receptores fundamentales para las funciones de adhesión y agregación: los complejos GP Ib-V-IX, IIb-IIIa y Ia-IIa y las GP IV y VI[144]. Las mutaciones genéticas que provocan alteraciones en alguno de estos receptores da lugar a deficiencias de adhesión o de agregación.

Alteraciones del complejo glucoproteico Ib-V-IX

El complejo GP Ib-V-IX es el receptor del FVW para su actuación como puente entre las plaquetas y el colágeno subendotelial en el proceso de la adhesión plaquetaria a la pared vascular. El **síndrome de Bernard-Soulier** es una enfermedad de herencia autosómica recesiva causada por mutaciones en los genes que codifican para alguna de las GP que integran el complejo –Ibα, Ibβ, V y IX– localizados en los cromosomas 17p12, 22q11.2, 3q29 y 3q21. En consecuencia, se altera la adhesión de las plaquetas al subendotelio[144-146]. Los pacientes sufren hemorragias cutaneomucosas, principalmente equimosis, epistaxis, gingivorragias, menorragias y hemorragias digestivas y, también, exceso de sangrado por traumatismos o intervenciones quirúrgicas. En los exámenes de laboratorio se aprecia trombocitopenia con plaquetas macrocíticas y una característica disminución de la agregometría estimulada por ristocetina, indicando la ausencia de interacción entre el receptor y el FVW. Aplicando técnicas de citometría de flujo o de electroforesis, se identifica cuál de las GP del complejo se encuentra disminuida (fig. 34.3). Las plaquetas observadas al microscopio electrónico de transmisión muestran hipertrofia del SCA con el aspecto de plaquetas en queso suizo.

El síndrome de **seudo-Von Willebrand** es otra alteración genética del complejo GP Ib-V-IX que consiste en un incremento de la apetencia de este receptor para el FVW[144,147]. En este caso, se produce, por un lado, un consumo del FVW plasmático que conlleva la disminución de sus niveles, especialmente para los multímeros de alto peso molecular, y, por otro, un marcado aumento de la capacidad de agregación de las plaquetas *in vitro* con dosis bajas de ristocetina, e incluso en ausencia de agonistas. Clínicamente, los pacientes muestran diátesis hemorrágica moderada de tipo mucocutáneo.

Tromboastenia de Glanzmann

El complejo GP IIb-IIIa interviene en la agregación plaquetaria funcionando como receptor para los puentes de fibrinógeno que unen a las plaquetas entre sí. La tromboastenia de Glanzmann es la principal alteración genética de este complejo, y se debe a mutaciones en los genes de las GP que lo integran, IIb y IIIa, localizados en el cromosoma 17q21-23. La agregación de las plaquetas entre sí no se produce correctamente y, por ello, los individuos afectados presentan diátesis hemorrágica grave[144,145,148]. La herencia es autosómica recesiva, y la diátesis se presenta en forma de púrpura, epistaxis, gingivorragias, menorragias y sangrado excesivo por exodoncias o intervenciones quirúrgicas. Las hemorragias obstétricas suelen ser también muy abundantes.

Entre los datos de laboratorio destaca el recuento de plaquetas normal, junto con un tiempo de sangría muy prolongado, que se corresponde con un profundo defecto agregométrico con el siguiente patrón: ausencia de la primera onda con ADP y epinefrina, y disminución o ausencia de la agregación inducida por colágeno, araquidónico y trombina; por el contrario, la aglutinación con ristocetina suele ser normal o reversible. La ausencia o importante disminución de la retracción de coágulo es otra característica biológica de la tromboastenia de Glanzmann.

Alteraciones en los receptores del colágeno

La unión de las plaquetas al subendotelio que, en un primer momento, acontece mediante el FVW, se consolida posteriormente por la unión directa al colágeno subendotelial a través de sus receptores específicos GPIa-IIa, GPIV y GPVI[144,145,149].

Mutaciones de los genes que codifican para las proteínas del complejo **GPIa-IIa**, localizados en el cromosoma 5q23-31, o

para la **GPVI**, en el cromosoma 7q11.2, generan deficiencias de los receptores, que se traducen clínicamente con diátesis hemorrágica moderada. En el laboratorio, las plaquetas de estos pacientes muestran una adhesión defectuosa al colágeno purificado y una alteración agregométrica en respuesta al colágeno. Estas mismas alteraciones se observan en el déficit de **GPIV** aunque, en este caso, no suele haber diátesis hemorrágica valorable.

Alteraciones de la actividad procoagulante

La activación plaquetaria va acompañada de una transformación en su membrana por la cual se exponen fosfolípidos de carga negativa, fundamentalmente fosfatidilserina, constituyendo una superficie idónea para el ensamblaje de los complejos activadores del factor X y de la protrombina, a fin de que se forme trombina y, posteriormente, fibrina.

El **síndrome de Scott**, de herencia autosómica recesiva, es una deficiencia de las enzimas que promueven la exposición de los fosfolípidos negativos en la superficie de las plaquetas y, en consecuencia, queda disminuida la formación final de fibrina, como acontece en los déficit de factores de coagulación[17,144]. En el síndrome de Scott, por tanto, la clínica y las pruebas de laboratorio son más propias de una coagulopatía que de una trombocitopatía. Las manifestaciones hemorrágicas suelen estar relacionadas con traumatismos, cirugía o exodoncias y, con frecuencia, se producen hematomas. El tiempo de sangría y la agregometría suelen ser normales y, en cambio, se encuentra un alargamiento del tiempo de protrombina en suero. Este patrón biológico, junto con las características de las hemorragias, permiten diferenciar los defectos congénitos de la actividad procoagulante de otras trombocitopatías. El tratamiento de este síndrome se basa mayoritariamente en la transfusión de plaquetas o de sangre total y en la administración de complejo protrombínico.

El **síndrome de Stormorken** es una alteración contraria al síndrome de Scott ya que se caracteriza por la sobrexpresión de actividad procoagulante, incluso en ausencia de agentes activadores[17,144]. Paradójicamente, la existencia en estos enfermos de unas plaquetas en permanente estado de activación procoagulante no cursa con predisposición a la trombosis sino con tendencia al sangrado.

Patología de la secreción y de la activación

Una de las respuestas fisiológicas de las plaquetas activadas es la secreción de sustancias con capacidad para activar nuevas plaquetas, a modo de mecanismo amplificador, o bien, colaboradoras en otros procesos, como la coagulación o la reparación de los tejidos. Las alteraciones genéticas de los gránulos plaquetarios específicos, α o densos, o del mecanismo de activación, conducen a alteraciones de diversos tipos en la secreción.

Déficit de gránulos densos

El déficit de gránulos densos plaquetarios es una enfermedad genética heterogénea, con un defecto cuantitativo y/o funcional de grado variable, que provoca un déficit de la secreción de su contenido durante la activación plaquetaria[150-152]. En ocasiones, esta alteración se asocia con deficiencias de gránulos α, o bien, con trastornos generalizados de los lisosomas. La falta de liberación del contenido de los gránulos densos afecta al mecanismo amplificador de la activación de las plaquetas. En el laboratorio, el déficit de secreción de estos gránulos produce un patrón agregométrico característico (fig. 34.2): primera onda reversible y ausencia de segunda onda inducidas por ADP y epinefrina junto a marcada disminución de la agregación al colágeno.

El **déficit selectivo de gránulos densos**, o *δ-storage-pool disease*, se hereda con carácter autosómico dominante y, clínicamente, cursa con síntomas hemorrágicos muy variables, según el grado de deficiencia granular, que suelen manifestarse en forma de equimosis, epistaxis, menorragias y hemorragias provocadas por traumatismos o por cirugía. Las pruebas diagnósticas denotan cifras de plaquetas normales o discretamente disminuidas, sin alteraciones morfológicas en el frotis sanguíneo, prolongación del tiempo de sangría, *in vivo* e *in vitro*, y del patrón agregométrico descrito. Mediante técnicas especiales, puede demostrarse la disminución de los elementos propios de los gránulos densos, como Ca^{++}, serotonina, ATP y ADP[12,18]. Asimismo, se puede observar disminución de la liberación de ATP en plaquetas estimuladas, mediante lumiagregometría. Por métodos apropiados de microscopia electrónica de transmisión (fig. 34.4) es posible cuantificar el grado de la reducción numérica de gránulos y, asimismo, valorar alteraciones morfológicas de los mismos como disminución de la electrondensidad[19].

Las **formas asociadas con déficit parcial de gránulos** α, o *α-storage-pool disease*, se comportan de forma similar, desde los puntos de vista clínico y biológico, al déficit selectivo de gránulos densos. En el frotis sanguíneo únicamente se observa cierta hipogranulación plaquetaria debida a la disminución de los gránulos α[151].

En cuanto a la asociación de déficit de gránulos densos con alteraciones generalizadas de los lisosomas, las mutaciones genéticas subyacentes suelen afectar a proteínas involucradas en la génesis de las estructuras lisosómicas o a la regulación de sus interacciones celulares. En el **síndrome de Hermansky-Pudlak**, definido por la asociación de albinismo oculocutáneo, diátesis hemorrágica y ocasional presencia de pigmento ceroide en los lisosomas de diversos tejidos, las alteraciones genéticas son heterogéneas pero la más frecuente es una mutación en el gen *HPS1*, localizado en el cromosoma 10q-23.1[153]. El **síndrome de Chediak-Higashi**, causado por mutaciones en el gen *CHS1*, localizado en el cromosoma 1 q42, también presenta albinismo pero, además, cursa con alta susceptibilidad a las infecciones, debido a deficiencias en la inmunidad y en la fagocitosis[154]. En los leucocitos circulantes, así como en las células de otros tejidos, se observan al microscopio gránulos gigantes, probablemente lisosomas anómalos fusionados. En uno y otro síndrome, ambos de herencia autosómica recesiva, al margen de la clínica extrahematológica, se aprecia diátesis hemorrágica, de moderada a grave, de tipo trombocitopático, y con pruebas de laboratorio características del déficit de secreción.

Alteraciones de los gránulos α

Las alteraciones genéticas de los gránulos α pueden corresponder a una deficiencia numérica total –síndrome de las plaquetas grises– o parcial, o bien limitarse a alteraciones selectivas de alguno de sus componentes, como en el síndrome de Quebec. El déficit parcial de gránulos α puede asociarse también con una deficiencia de gránulos densos pero, tanto la clínica como las pruebas de laboratorio, son similares al déficit selectivo de gránulos densos, como se ha comentado anteriormente.

El **síndrome de las plaquetas grises**, o *α-storage-pool disease*, se define por la ausencia o disminución importante de gránulos α plaquetarios[155,156]. Al faltar las estructuras granulares, que se colorean en rojo con la tinción de May-Grünwald-Giemsa, las plaquetas aparecen de color gris. Los pacientes con síndrome de las plaquetas grises pueden sufrir, además, fibrosis medular, de carácter no progresivo, causada por una liberación excesiva de los factores de crecimiento alojados normalmente en los gránulos α, como el PDGF (factor de crecimiento derivado de las plaquetas). La inexistencia de las estructuras granulares no permite el empaquetado de estos factores, y favorece que sean liberados al espacio extracelular y estimulen la proliferación de fibroblastos. Los pacientes con síndrome de plaquetas grises sufren diátesis hemorrágica cutaneomucosa, en general poco importante, pero que, en ocasiones, puede causar hemorragias graves. En las pruebas de laboratorio se observa trombocitopenia moderada, y la presencia de la totalidad, o bien una subpoblación, de plaquetas grises en el frotis sanguíneo[157]. Es importante señalar que las extensiones deben realizarse sin anticoagulante, ya que el EDTA provoca cierto grado de desgranulación, lo cual crearía confusión con la existencia de plaquetas grises verdaderas. La valoración de la función plaquetaria global *in vitro* o mediante el tiempo de sangría denota una deficiencia variable, y la agregometría muestra alteraciones de diversos tipos, sin ningún patrón específico. La fibrosis medular es claramente visible en las biopsias de médula ósea, pero raramente cursa con hematopoyesis extramedular ni esplenomegalia.

En ocasiones, únicamente existe una subpoblación de plaquetas grises: **déficit parcial de gránulos α**[155]. En estos casos, tanto las manifestaciones clínicas como las biológicas son menos aparentes y, para obtener un diagnóstico seguro, es imprescindible la observación de las plaquetas por microscopia electrónica de transmisión para cuantificar el déficit granular (fig. 34.4).

Entre las alteraciones selectivas de componentes de los gránulos α destaca el **síndrome de Quebec**, inicialmente denominado factor V Quebec[155,156,158]. Se trata de una rara alteración que consiste en una proteólisis anormal *in situ* de algunas proteínas de los gránulos α, especialmente del complejo multimerina/factor V de la coagulación, debido a un exceso de urocinasa. La degradación de las proteínas conlleva un fallo en la formación de protrombinasa y, por tanto, un déficit coagulativo. La degradación del fibrinógeno, entre otros factores, produce un incremento de sus productos de degradación lo cual constituye un dato de utilidad diagnóstica para este síndrome. Al margen del síndrome de Quebec, se han descrito **otras deficiencias selectivas de componentes de los gránulos α**, ya sea acompañando a déficit plasmáticos de las mismas, ya sea de forma aislada. Se han reportado deficiencias de este tipo para fibrinógeno, FVW, PAI-I (inhibidor del activador del plasminógeno I) y, asimismo, para el factor V[155,156].

Patología de la activación

Cuando un agonista plaquetario interacciona con su receptor se inician una serie de reacciones bioquímicas de activación o transducción que tienen por objeto poner en marcha las diversas funciones efectoras de las plaquetas, entre ellas adhesión, agregación y secreción. La patología de los receptores GP ha sido tratada en el apartado «Patología de la adhesión y la agregación». Este apartado se centrará en la patología genética de los restantes receptores plaquetarios y en los mecanismos y factores implicados en la activación[134,159]. Desde el punto de vista clínico y de análisis de la función plaquetaria todos estos trastornos se comportan de forma similar al déficit de gránulos densos y, por tanto, se denominan genéricamente **déficit de secreción primario**, es decir, no secundario, a un déficit granular.

Las **alteraciones genéticas de los receptores** son relativamente poco frecuentes; se han descrito algunos casos de disminución de los receptores para el **ADP**, en ocasiones del mismo que sirve de diana para la ticlopidina y el clopidogrel. También se han descrito deficiencias de receptores **α-2-adrenérgicos** para la epinefrina. Una alteración genética peculiar de los receptores plaquetarios es el llamado **síndrome de las plaquetas viscosas** o *sticky platelet syndrome*. Consiste en una susceptibilidad exagerada de los receptores para el ADP y/o la epinefrina que provoca un estado de hiperactivación plaquetaria y favorece el desarrollo de trombosis arteriales las cuales, en ocasiones, pueden relacionarse con algún episodio de estrés emocional. Las alteraciones del receptor del **tromboxano**, generalmente de tipo funcional, producen un fallo en la primera fase de la transducción sin que se logre activar la fosfolipasa C.

También se han descrito alteraciones en la **proteína** $G\alpha_q$ y en la **fosfolipasa C-β**, mediadores intraplaquetarios de la activación que actúan tras la fase de ocupación del receptor. El metabolismo del **ácido araquidónico** también puede sufrir alteraciones de tipo genético. Entre ellas se han identificado déficit de: liberación del ácido a partir de los fosfolípidos de la membrana, **tromboxano-sintetasa** y **ciclooxigenasa**. El último defecto es idéntico al producido por la ingesta de ácido acetilsalicílico y, por tanto, también se denomina **síndrome *aspirin-like***.

Patologías complejas e inclasificables

A pesar de que los avances en el campo de la genética han permitido conocer mucho mejor la naturaleza de diversas trombocitopenias/trombocitopatías constitucionales, algunas de ellas no pueden clasificarse en ninguno de los grupos patogénicos descritos. Así, en el síndrome de Wiskott-Aldrich se afectan diversos componentes y funciones de las plaquetas, por lo cual se considera una enfermedad compleja. Otras veces, la clasificación no es factible porque existen pocos casos o familias reportados, o porque se trata de entidades aún poco estudiadas.

Síndrome de Wiskott-Aldrich

El síndrome de Wiskott-Aldrich (WAS) es una grave enfermedad genética que se define por la asociación de infecciones recurrentes, eccema y diátesis hemorrágica[160,161]. La **herencia** es autosómica recesiva, ligada al cromosoma X y, por tanto, los pacientes varones la sufren y las mujeres la transmiten. Las **mutaciones del gen WAS** dan lugar a alteraciones en la proteína WASP, la cual se expresa, de forma exclusiva, en los progenitores CD34+ y en todas las células hematopoyéticas. Aunque no se conocen exactamente todas las funciones de la WASP, se sabe que participa en la reorganización del citoesqueleto y en la transducción de señales, funciones fundamentales para la célula, por lo que sus alteraciones tienen repercusión clínica a distintos niveles.

Los pacientes afectados de WAS tienen una masa plaquetaria global muy disminuida, ya que suelen presentar **trombocitopenia** por debajo de 50×10^9/L y, además, sus plaquetas

son de tamaño reducido: microcitosis. Por otra parte, se ha demostrado que presentan diversos déficit funcionales, como disminución de gránulos α y densos, y alteraciones agregométricas. Los megacariocitos están presentes en la médula ósea, pero no hay acuerdo en considerar si funcionan normalmente o si dan lugar a trombocitopoyesis ineficaz. Las alteraciones plaquetarias descritas, para las cuales aún no existe una explicación fisiopatológica concreta, conducen a la diátesis hemorrágica característica del proceso.

En cuanto a las infecciones recurrentes, se deben a **alteraciones combinadas de la inmunidad humoral y celular**. Los linfocitos T y B están disminuidos y, además, presentan deficiencias funcionales. En la inmunidad celular hay reducción de la respuesta a mitógenos y antígenos específicos y con deficiente hipersensibilidad retardada, escasa proliferación linfocitaria frente a células alogénicas irradiadas, aumento de susceptibilidad a la apoptosis y disminución de la respuesta quimiotáctica. Se han descrito, asimismo, deficiencias del quimiotactismo y fagocitosis en el SMF. En la inmunidad humoral, las inmunoglobulinas sufren un catabolismo acelerado, pero, a pesar de ello, las IgA, IgD e IgE suelen estar elevadas, y a veces presentan bandas monoclonales; la IgG suele ser normal, y la IgM, disminuida. También existe escasa producción de anticuerpos con disminución de las isohemaglutininas y escasa respuesta a la inmunización contra *Haemophilus influenzae* tipo B, tétanos y neumococo.

La **clínica** hemorrágica aparece poco después del nacimiento en forma de petequias, epistaxis y rectorragias y, ocasionalmente, hemorragias intracraneales. El eccema es de tipo atópico, y puede asociarse con otras manifestaciones de atopia. Las infecciones comienzan habitualmente antes de los 6 meses, son básicamente respiratorias, otitis supuradas o sobreinfecciones del eccema. Los gérmenes implicados suelen ser bacterias, tipo *Haemophilus* o estafilococos, pero también puede haber infecciones víricas, especialmente por herpes. La importante disfunción inmune de los niños afectados de WAS motiva que, con frecuencia, desarrollen procesos autoinmunes, incluyendo anemia hemolítica, vasculitis o nefropatía. Por otra parte, el WAS también se asocia con un mayor riesgo de neoplasias, con predominio de linfomas no hodgkinianos de variedades agresivas y extranodulares. Existen formas atenuadas de WAS, con grados variables de inmunodeficiencia y eccema, incluso con trombocitopenia aislada en la llamada **trombocitopenia ligada al cromosoma X** (WAS/XLT)[160,162].

El cuadro clínico del WAS es sumamente característico y, en general, no es difícil efectuar un **diagnóstico** correcto[160,161]. En las formas atenuadas, el diagnóstico es algo más difícil y, como datos orientativos, son de gran valor la historia familiar, la presencia de plaquetas microcíticas y la ausencia de otras causas de trombocitopenia. El análisis genotípico de las mutaciones del WAS es la prueba diagnóstica definitiva. Este análisis también es necesario para identificar a las mujeres portadoras y efectuar el diagnóstico prenatal.

La **evolución** espontánea del WAS clásico es de pronóstico muy grave, de modo que los niños fallecen antes o durante la adolescencia. Sin embargo, el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos ha cambiado enormemente este pronóstico, ya que se obtienen respuestas positivas y curación en la mayoría de los casos. Al margen del trasplante, es preciso utilizar diversas **medidas terapéuticas** complementarias, entre ellas una correcta profilaxis y tratamiento de las hemorragias, con fármacos hemostáticos si es preciso, y reservar las transfusiones de plaquetas únicamente para las hemorragias graves. Asimismo, se recomienda administrar inmunoglobulinas periódicamente para disminuir las infecciones, teniendo en cuenta que se precisan dosis superiores a las estándar, dado el hipercatabolismo de las mismas. Si aparece una infección, hay que instaurar una pauta antibiótica suficiente y con la duración adecuada. El eccema responde bien al tratamiento tópico y, a veces, es conveniente la administración de corticoides y/o antibióticos por períodos cortos de tiempo. Las patologías autoinmune y neoplásica han de ser objeto de tratamientos específicos, adaptados a las particularidades del WAS.

Otras alteraciones plaquetarias complejas

La macrotrombocitopenia asociada con ausencia del antígeno Lewis-X cursa con diátesis hemorrágica grave, trombocitopenia, plaquetas gigantes y neutropenia con disminución del antígeno sialil-Lewis-X en los neutrófilos. A pesar de que la GPIb se encuentra disminuida, no se aprecian alteraciones en su gen. Por otra parte, los megacariocitos muestran alteraciones similares a las que se observan en los ratones carentes de factor de transcripción NF-E2[160].

Síndrome de Montreal. Actualmente, se sabe que el defecto específico de este síndrome, de herencia autosómica dominante, es un déficit plaquetario de la subunidad catalítica de la calpaína I[163]. La calpaína es una molécula intraplaquetaria que se activa con la ocupación de la GP IIb-IIIa en el contexto de los mecanismos de transducción. La alteración de la calpaína provoca el desarrollo de macrotrombocitopenia *in vitro*, es decir, las plaquetas son de tamaño normal, y cuando se activan sufren un marcado aumento de tamaño. Por otra parte, el tiempo de sangría está prolongado, y las plaquetas muestran disminución de la agregación inducida por trombina, pero, en cambio, pueden agregar espontáneamente.

Trombocitopatía de la AGel amiloidosis. Se trata de una alteración genética del gen de la gelsolina, proteína reguladora de la reorganización del citoesqueleto. Esta alteración disminuye el cambio de forma plaquetario, especialmente en respuesta al ADP, pero mantiene la agregación normal. Clínicamente, cursa con diátesis hemorrágica trombopática moderada. En algunos casos, existen alteraciones asociadas de factores de la coagulación y, asimismo, de la integridad vascular por depósitos de amiloide[160].

Enfermedad plaquetaria con predisposición a la leucemia mieloblástica. La mutación del gen del factor de transcripción hematopoyético LMA1 o *core-binding factor 2*, de herencia autosómica dominante, da lugar a una proliferación deficiente de los megacariocitos y, a la larga, es un factor de riesgo para padecer leucemia mieloblástica. Los pacientes muestran diátesis hemorrágica por trombocitopenia moderada, con plaquetas de tamaño normal, y un déficit de secreción primario. Al margen de esta entidad, también se ha descrito incremento de riesgo neoplásico en pacientes con α-δ-*storage-pool disease* y en algunas macrotrombocitopenias aisladas[160,164].

Otras enfermedades de difícil clasificación son la **enfermedad de García** o trombocitopenia cíclica amegacariocítica familiar, y la **trombocitopenia ligada al cromosoma X asocia-**

da con talasemia, por una alteración genética del cromosoma X distinta del WAS[160].

Patologías secundarias a alteraciones congénitas de otros sistemas

Algunas alteraciones genéticas no plaquetarias pueden producir trastornos secundarios en las plaquetas por diversos mecanismos.

Los hemangiomas gigantes del **síndrome de Kasabach-Merritt** provocan trombocitopenia moderada, por secuestro de las plaquetas en el interior del angioma, y coagulopatía de consumo por formación de microtrombos[160,165]. Es preciso sospechar este diagnóstico en los niños con trombocitopenia inexplicada asociada con datos de hiperconsumo. Hay que tener en cuenta que los angiomas no siempre son visibles a la exploración física, y se precisan estudios específicos para su detección. Con la edad, los hemangiomas gigantes tienden a involucionar pero, a veces, es necesario tratarlos mediante extirpación quirúrgica o embolización de sus cavidades siempre que sea posible. Los antiagregantes están indicados para disminuir la formación de trombos intraangiomatosos. Se han descrito también casos de angiomas múltiples o hemangiomatosis difusa, ya sea generalizada o circunscrita al bazo.

La enfermedad de **Von Willebrand tipo 2B** cursa con trombocitopenia secundaria a la formación de agregados plaquetarios espontáneos (v. Capítulo 35). En esta enfermedad, existe un aumento de afinidad del FVW por su receptor plaquetario y, en consecuencia, aumenta la fijación del factor sobre las plaquetas. La tendencia de las plaquetas a aglutinar frente a bajas concentraciones de ristocetina, e incluso espontáneamente, constituye la expresión *in vitro* de este fenómeno. Otros efectos del mismo son la disminución de los multímeros de alto peso molecular del FVW circulantes, y la seudotrombocitopenia por agregados plaquetarios[147,160]. La administración de desmopresina, de gran utilidad para controlar las situaciones de riesgo hemorrágico en la enfermedad de Von Willebrand, está totalmente contraindicada en la forma 2B, puesto que, al liberar nuevas moléculas de factor desde el endotelio, se agrava el depósito del mismo sobre las plaquetas; en su lugar, puede ser útil el crioprecipitado en dosis bajas.

En la enfermedad de **Von Willebrand tipo *platelet discordand*** ocurre algo parecido –trombocitopenia y disminución de los multímeros de alto peso molecular circulantes– aunque sin hiperaglutinación a la ristocetina[147,160].

Otras patologías genéticas que pueden cursar con alteraciones de las plaquetas son las **histiocitosis acumulativas** y el **síndrome hemofagocítico primario** (v. Capítulo 29). En ambos casos, la hiperfunción del SMF es capaz de retirar de la circulación cierto número de plaquetas y producir trombocitopenia. Algunas malformaciones congénitas, como el bazo ectópico, pueden provocar disminución de plaquetas por **hiperesplenismo** ya que, en ocasiones, se torsiona el pedículo esplénico[166]. Finalmente, aunque la **trombocitopenia autoinmune** no es una enfermedad hereditaria, sí se ha descrito la agrupación de casos familiares[160]. Por tanto, hay que tenerla en cuenta al efectuar el diagnóstico diferencial de las trombocitopenias genéticas, cuando las características de las plaquetas coincidan con las de una PTAI, principalmente si el contexto del paciente y/o de su familia muestra una tendencia a la autoinmunidad.

Tratamiento y profilaxis de las hemorragias en las trombocitopenias/trombocitopatías genéticas

A excepción de las alteraciones de la actividad procoagulante, que cursan con una diátesis hemorrágica similar a la de las coagulopatías, en las restantes trombocitopenias/trombocitopatías la prevención y tratamiento de las hemorragias se lleva a cabo de forma parecida, variando la estrategia a seguir en función de la gravedad del sangrado[143,167].

Las medidas profilácticas son de gran importancia en todos los casos, e incluyen una correcta higiene dental, con revisiones odontológicas regulares, y la prevención de la hipertensión arterial y de las hemorragias digestivas. Asimismo, las frecuentes menorragias causadas por estas patologías pueden controlarse con antifibrinolíticos y, en casos graves, con anovulatorios[143]. En estas pacientes, en especial, es importante detectar potenciales episodios de anemia ferropénica y efectuar el tratamiento apropiado. En algunas pacientes puede estar indicado efectuar ferroterapia intermitente durante 7-10 días de cada ciclo menstrual.

Si se producen sangrados mucosos, suele dar buen resultado la aplicación de agentes tópicos, como celulosa o microfibras de colágeno, o bien, los propios antifibrinolíticos[143,167]. Ante situaciones de riesgo quirúrgico, da buen resultado la desmopresina[168], a excepción de las enfermedades de Von Willebrand 2 B y seudo-Von Willebrand, en que está contraindicada, como se ha comentado anteriormente. En cuanto a las hemorragias obstétricas, su intensidad es muy variable, siendo las de mayor importancia las que aparecen en las alteraciones de la adhesión y agregación, en cuyo caso requieren medidas específicas[143,169]. En los déficit de secreción, la diátesis hemorrágica obstétrica es mucho menos intensa, y puede variar en los diferentes partos de la misma paciente. Las macrotrombocitopenias constituyen un caso aparte ya que, en general, las hemorragias son poco importantes y se previenen con medidas de tipo moderado[139,170].

Cuando la diátesis es importante o la intervención es de alto riesgo hay que recurrir a la administración de concentrados de plaquetas. Otra terapia, que ha dado buen resultado en algunos pacientes, es la administración de factor VII recombinante[171].

Relación entre los aloantígenos plaquetarios y el riesgo genético para determinadas enfermedades

En 1996, Weiss et al[172] publicaron la posible relación entre el alelo HPA-1b y el riesgo de sufrir una trombosis coronaria. El impacto de esta observación generó la realización de estudios similares en los que no se alcanzaron resultados homologables, de manera que algunos autores confirmaban la observación y otros la desmentían rotundamente[173,174]. Uno de los inconvenientes para la validación de sus conclusiones radica en que los grupos de pacientes analizados suelen presentar unas características clínicas y epidemiológicas muy heterogéneas. Por otra parte, es muy difícil demostrar una relación directa entre un marcador genético y el riesgo de sufrir una enfermedad como la coronaria en la que intervienen múltiples factores, tanto genéticos como ambientales. Sólo una selección muy precisa y homogénea de los pacien-

tes puede aproximarnos con mayor veracidad a este tipo de correlaciones.

Los polimorfismos presentes en las GPIb-IX-V y Ia-IIa también han sido explorados en relación con la enfermedad tromboembólica y hemorrágica, y han alcanzado resultados favorables respecto a una posible correlación, pero deberán ser confirmados en series más amplias de pacientes, o en otros estudios.

Posteriormente, Kroll et al[175] han referido la posible asociación entre el polimorfismo HPA-5 y la trombosis coronaria y el infarto de miocardio en diferentes grupos de pacientes con unas condiciones genéticas y ambientales bien definidas. A esta serie de publicaciones hay que añadir la interesante observación preliminar según la cual el polimorfismo HPA-5 podría actuar como un marcador perteneciente al sistema menor de histocompatibilidad y, como tal, incidir en el desarrollo y grado de gravedad de la enfermedad del injerto contra el huésped en los pacientes tratados con trasplante de progenitores hematopoyéticos a partir de un donante HLA compatible.

BIBLIOGRAFÍA

1. Perkins SI. Normal blood and bone marrow values in humans. En: Lee GR, Foerster J, Lukens J (eds.). Wintrobe's Clinical Hematology (10.ª ed.). Baltimore: Williams & Wilkins, 1999; 2738-2748.
2. Pujol-Moix N. Trombocitopenias: concepto, etiopatogenia, clasificación. En: Pujol-Moix N (ed.). Trombocitopenias. Madrid: Ediciones Harcourt, SA, 2002; 85-90.
3. Corash L, Mok Y, Levin J, Baker G. Regulation of platelet heterogeneity: effects of thrombocytopenia on platelet volume and density. Exp Hematol 1990; 18:205-212.
4. Pujol-Moix N. Trombocitopenias sin diátesis hemorrágica aparente. En: Pujol-Moix N (ed.). Trombocitopenias. Madrid: Ediciones Harcourt, SA, 2002; 97-100.
5. Nogués N, Ribera Crusafont A, Parra R. Métodos de diagnóstico inmunobiológico. En: Pujol-Moix N (ed.). Trombocitopenias. Madrid: Ediciones Harcourt, SA, 2002; 135-144.
6. Picó Pascual M, Escolar G. Tiempo de sangría *in vivo* e *in vitro*. En: Pujol-Moix N (ed.). Trombocitopenias. Madrid: Ediciones Harcourt, SA, 2002; 109-112.
7. Pujol-Moix N. Valoración de las plaquetas por métodos convencionales. En: Pujol-Moix N (ed.). Trombocitopenias. Madrid: Ediciones Harcourt, SA, 2002; 100-107.
8. McShine RL, Das PC, Smit Sibinga CTH, Brozovic B. Differences between the effects of EDTA and citrate anticoagulants on platelet count and mean platelet volume. Clin Lab Haematol 1990; 12:277-285.
9. Harrison P, Horton A, Grant D, Briggs C, MacHin S. Immunoplatelet counting: a proposed new reference procedure. Br J Haematol 2000; 108:228-235.
10. Chanarin I. The blood count, its quality control and related methods. En: Chanarin I, ed. Laboratory Haematology: an account of laboratory techniques. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1989; 3-32.
11. Cattaneo M, LecchiA, Agati B, Lombardi R, Zighetti ML. Evaluation of platelet function with the PFA-100 system in patients with congenital defects of platelet secretion. Thromb Res 1999; 96:213-217.
12. De Castellarnau C. Agregometría. En: Pujol-Moix N, ed. Trombocitopenias. Madrid: Ediciones Harcourt, SA, 2002; 112-117.
13. Ten Cate JW, Jenkins CSP (1980). Platelet function tests. En: Thompson JM, ed. Blood coagulation and haemostasis (2.ª ed.). Edinburgh: Churchill Livingstone, 1980.
14. Lozano M, Estebanell E, Cid J, et al. Platelet concentrates prepared and stored under currently optimal conditions: minor impact on platelet adhesive and cohesive functions after storage. Transfusion 1999; 39:951-959.
15. Linden MD, Frelinger AL 3rd, Barnard MR, Przyklenk K, Furman MI, Michelson AD. Application of flow cytometry to platelet disorders. Semin Thromb Hemost 2004; 30:501-511.
16. Escolar G, Díaz-Ricart M, Ordinas A. Estudio de la adhesividad, de las glucoproteínas de membrana y de la actividad procoagulante de las plaquetas. En: Pujol-Moix N (ed.). Trombocitopenias. Madrid: Ediciones Harcourt, SA, 2002; 121-128.
17. Solum NO. Procoagulant expression in platelets and defects leading to clinical disorders. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999; 19: 2841-2846.
18. De Castellarnau C. Estudio de la secreción y la activación plaquetarias. En: Pujol-Moix N (ed.). Trombocitopenias. Madrid: Ediciones Harcourt, SA, 2002;128-134.
19. Pujol-Moix N, Hernández A, Escolar G, Español I, Martínez-Brotons F, Mateo J. Platelet ultrastructural morphometry for diagnosis of partial δ-sotrage pool disease in patients with mild platelet dysfunction and/or thrombocytopenia of unknown origin. Study of 24 cases. Haematologica 2000; 85:620-627.
20. Pujol-Moix N. Estudio de las plaquetas por microscopia electrónica de transmisión. En: Pujol-Moix N (ed.). Trombocitopenias. Madrid: Ediciones Harcourt, SA, 2002; 145-152.
21. Von de Borne AEGKR, Helmerhorst FM, Van Leeuwen EF, Pegels JG, Von Riesz E, Engelfriet CP. Autoimmune thrombocytopenia. Detection of platelet autoantibodies with the suspension immunofluorescence test. Br J Haematol 1980; 45:319-326.
22. Taaning E. Microplate enzyme immuno-assay for detection of platelet antibodies. Tissue Antigens 1985; 25:19-27.
23. Rachel JM, Summers TC, Sinor LT, Plapp FV. Use of a solid phase red blood cell adherence method for pretransfusion platelet compatibility testing. Am J Clin Pathol 1988; 90:63-68.
24. Kiefel V, Santoso S, Weisheit M, Mueller-Eckhardt C. Monoclonal antibody-specific immobilisation of platelet antigens (MAIPA): a new tool for the identification of platelet reactive antibodies. Blood 1987; 70:1722-1726.
25. Nordhagen R, Flaathen ST. Chloroquine removal of HLA antigens from platelets for the platelet immunofluorescence test. Vox Sang 1985; 48:156-159.
26. Bertolini F, Porretti L, Corsini C, Rebulla P, Sirchia G. Platelet quality and reduction of HLA expression in acid-treated platelet concentrates. Br J Haematol 1993; 83:525-527.
27. Muñiz-Díaz E, Madoz P, Pujol-Moix N, et al. Characterization of the antibodies directed against platelet cryptantigens detected during the immunological study of 356 consecutive patientes with pressumed autoimmune thrombocytopenia. Transfus Med 1995; 5:185-191.
28. Menitove JE, Pereira J, Hoffman R, Anderson T, Fried W, Aster RH. Cyclic thrombocytopenia of apparent autoimmune etiology. Blood 1989; 73:1561-1569.
29. Macchi L, Clofent-Sánchez G, Marit G, et al. PAICA: a method for characterizing platelet-associated antibodies: its application to the study of idiopathic thrombocytopenic purpura and to the detection of platelet-bound c7E3. Thromb Haemost 1996; 76:1020-1029.
30. Kuijpers RWAM, Faber NM, Kanhai HH, Von der Borne AEGKr. Typing of fetal platelet alloantigens when platelets are not available. Lancet 1990; 336:1319.
31. Higuchi R. Simple and rapid preparation of samples for PCR. En: Erlich HA (ed.). PCR technology. Principles and applications for DNA amplification. New York: M Stockton Press,1990; 1-38.
32. Metcalfe P, Waters AH. HPA-1 typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP): a rapid and simple technique. Br J Haematol 1993; 85:227-229.
33. Dormoy A, Hanau D, Tongio MM, Cazenave JP. Development and validation of a genotyping kit for the eight principal human platelet alloantigen systems. Transf Clin Biol 2000; 7:51-62.

CAPÍTULO 35

Coagulopatías plasmáticas congénitas

J. Monteagudo, C. Sedano y R. Pérez Montes

ÍNDICE

Introducción
Hemofilias
Hemofilia A y factor VIII
Hemofilia B y factor IX
Genética
Transmisión
Detección de portadoras y diagnóstico prenatal
Sintomatología
Diagnóstico biológico
Tratamiento farmacológico
Tratamiento sustitutivo
Limitaciones del tratamiento sustitutivo
Aparición de inhibidores frente a los factores VIII y IX
Profilaxis primaria
Profilaxis secundaria
Profilaxis en cirugía
Actitud terapéutica ante los accidentes hemorrágicos
Enfermedad de Von Willebrand
Genética molecular
Función del factor Von Willebrand
Clasificación
Diagnóstico biológico
Manifestaciones clínicas
Tratamiento farmacológico
Terapéutica sustitutiva
Otros déficit
Alteraciones del fibrinógeno
Déficit de factor II
Déficit de factor V
Déficit de factor VII
Déficit de factor X
Déficit de factor XI
Déficit de factor XIII
Déficit combinados de varios factores de coagulación
Bibliografía

INTRODUCCIÓN

Los trastornos hemorrágicos plasmopáticos se designan también con el término de *hipocoagulabilidades*, para diferenciarlos en bloque de las diátesis hemorrágicas debidas a alteraciones plaquetarias y vasculares.

Considerando que los factores plasmáticos intervienen en los procesos de formación de fibrina y fibrinólisis, las hipocoagulabilidades congénitas pueden deberse a un déficit en la síntesis de los factores formadores de fibrina y a un incremento anormal de la fibrinólisis. Este último trastorno se limita al déficit de α_2-antiplasmina.

Las hipocoagulabilidades congénitas por deficiencia en la síntesis de factores que intervienen en la formación de fibrina afectan, en general, a un solo factor (alteraciones por la mutación de un solo gen); en cambio, los déficit adquiridos casi siempre presentan una disminución simultánea de varios factores.

Los distintos factores de la coagulación se han definido por su actividad biológica; por tanto, la deficiencia de actividad de un factor determinado se ha considerado como un déficit de éste. Sin embargo, desde hace algunos años, los métodos inmunoquímicos han permitido relacionar la actividad biológica con una proteína determinada. Así, se ha podido demostrar la ausencia de una determinada función coagulativa en ciertas afecciones, pero no la ausencia de la molécula proteínica a la que se atribuye esta función. En estos casos, una molécula proteínica determinada está presente pero es biológicamente inactiva.

Se han comprobado déficit congénitos de todos los factores de la coagulación, aunque los más frecuentes son la hemofilia A (déficit de factor VIII) y la hemofilia B (déficit de factor IX), razón por la cual la experiencia con éstos es mayor. En cambio, los déficit en la síntesis de los factores dependientes de la vitamina K suelen ser adquiridos.

HEMOFILIAS

Hemofilia A y factor VIII

La hemofilia A se caracteriza por una deficiencia de la actividad coagulante del factor VIII (FVIIIC) en el plasma, siendo normal el factor Von Willebrand (FVW). Los factores VIII y FVW son dos proteínas distintas, con estructura, función biológica, expresión antigénica y control genético diferentes, pero que circulan conjuntamente en el plasma constituyendo un complejo bimolecular: factor VIII-FVW. El factor VIII posee una actividad coagulante y una capacidad antigénica propia (FVIII:C:Ag) capaz de estimular la síntesis de anticuerpos específicos que la inactivan y que permiten su valoración mediante técnicas de inmunoanálisis. La otra proteína del complejo, el FVW, interviene en la interacción de las plaquetas con el subendotelio vascular, contribuyendo de este modo al primer eslabón de la hemostasia; el déficit de su síntesis constituye la enfermedad de Von Willebrand.

En la actualidad, no se conocen con exactitud todos los órganos y tejidos responsables de la síntesis del factor VIII. Los trasplantes de hígado en seres humanos y en animales afectados de déficit de este factor evidencian que el hígado sintetiza el factor VIII, habiéndose detectado RNA mensajero en los hepatocitos, pero no en la fracción sinusoidal. La longitud de este RNA es de 9.029 pares de bases.

La observación de la expresión del factor VIII en otros órganos, como el bazo, el riñón y los linfocitos, sugiere la existencia de otros lugares potenciales de síntesis[1]. Estos otros teóricos lugares de producción podrían desempeñar un papel importante en los casos de insuficiencia hepática.

El factor VIII es sintetizado como precursor en forma de una cadena polipeptídica única de 2.351 aminoácidos. Dentro de la célula, esta proteína es procesada y convertida en un heterodímero (formado por una cadena ligera de 80 kDa y otra pesada de peso molecular muy variable, desde 90 hasta 200 kDa). Esta molécula (factor VIII maduro) es excretada a la circulación, donde se estabiliza merced a su asociación al factor Von Willebrand plasmático por interacciones hidrófilas. Se desconoce si, además de esta acción, el FVW regula de un modo directo la expresión genética del factor VIII. Su vida media que, después de una transfusión, es de 12 horas, desciende a 2,4 horas en ausencia del factor Von Willebrand.

En la circulación, la concentración plasmática del factor VIII es de 150 ng/mL (1 nmol/L) y, en razón de su elevado peso molecular, se halla confinado al espacio intravascular, de modo que, tras la transfusión del mismo, pueden observarse recuperaciones de 80-100% en la circulación. No atraviesa la barrera placentaria.

Hemofilia B y factor IX

El déficit congénito del factor IX o enfermedad de Christmas se conoce como hemofilia B. El gen que codifica la síntesis del factor IX se halla, al igual que el gen del factor VIII, en el extremo del brazo largo del cromosoma X, en la posición q27. Su longitud es de 34 kb y está constituido por 8 exones y 7 intrones de longitudes variables. El factor IX es una glucoproteína de 415 aminoácidos y de un peso molecular aproximado de 55 kDa. Es sintetizado en el hígado en forma de una única cadena polipeptídica (pre-pro-factor IX), requiriendo varias modificaciones postranslacionales (proteólisis del péptido señal y del propéptido, glucosilación y carboxilación vitamina-K-dependiente), probablemente en el retículo endoplásmico, para la expresión final de la proteína madura, que es excretada a través del aparato de Golgi a la circulación como un polipéptido monocatenario, donde tiene una vida media de 18-24 horas. Su concentración plasmática es de 4-5 ng/mL en su forma de cimógeno. Cuando éste es activado, libera un péptido de activación de 35 aminoácidos y 10 kDa de peso molecular, y se convierte en una proteína bicatenaria, formada por una cadena ligera y otra pesada unidas por puentes disulfuro.

En la hemofilia B se han detectado casos con niveles normales del factor IX antigénico, denominados CRM+ (*cross reacting material*), otros con muy bajo a indetectable factor IX antigénico llamados CRM-, y un grupo con cantidades intermedias de factor IX antigénico, considerados como CRM reducido (CRMr). Existe heterogeneidad en las manifestaciones clínicas de estas distintas formas.

Se ha descrito un gran número de alteraciones moleculares que han dado origen a hemofilia B (Bm, Chapel Hill, Oxford 3, HiLo, Cambridge, etc.). En algunas de ellas, el defecto específico ha ocasionado un fenotipo de hemofilia B con determinadas características diferenciales. La hemofilia Bm constituye un grupo heterogéneo que se caracteriza por un alargamiento del tiempo de coagulación en presencia de tromboplastina bovina, pero no en la de tromboplastina humana. Las variantes de hemofilia Bm se hallan en alrededor del 5% de la población con hemofilia B.

Genética

La hemofilia A y B son coagulopatías congénitas que se heredan de modo recesivo ligado al sexo. Estos trastornos afectan de manera casi exclusiva a varones, hemicigotos que portan un alelo mutado en su cromosoma X.

El gen del factor VIII, uno de los mayores conocidos, representa el 0,1% del cromosoma X. Está dividido en 26 exones y 25 intrones, y contiene 186 kb. Han sido múltiples las mutaciones descritas en este gen (inserciones, deleciones, transposiciones de bases, etc.). Aproximadamente, en el 40% de casos de hemofilia A grave la causa es una inversión de una sección de la cola del brazo largo del cromosoma X, uno de los puntos de rotura situado en el intrón 22[2]. En otro 5%, las inversiones están localizadas en el intrón 1. En un 25% se observan sustituciones de un único nucleótido, y en un 5%, deleciones grandes, de más de 50 nucleótidos.

Aproximadamente en el 5% de pacientes con hemofilia A, se observan valores antigénicos normales del factor VIII, pero éste es disfuncionante. Son los pacientes denominados CRM positivos, o *cross-reacting* material positivos, los cuales mayoritariamente por mutaciones en el dominio A2 del gen, tienen una unión defectuosa con el factor IX[3]. El gen del factor IX también se encuentra localizado cerca de la cola del brazo largo del cromosoma X, posición q27. Está compuesto por 8 exones y 7 intrones, y contiene 34 kb.

En esta coagulopatía también se han descrito gran variedad de defectos genéticos. Las deleciones del gen y algunas mutaciones puntuales (estas últimas son el defecto más frecuente), pueden estar asociadas con la ausencia del factor IX antigénico, conduciendo al desarrollo de inhibidor con una incidencia de, aproximadamente, el 3%. Las mutaciones en –20 y –26, de la región promotora del factor IX, alteran el lugar de unión del factor 3333, interrumpiendo la transcripción. Los pacientes con mutación –26 tienen, además, altera-

do un elemento dependiente de andrógenos, y por ello no mejoran tras la pubertad (hemofilia B Brandemburgo), a diferencia de los de fenotipo Leyden (mutación –20) que sí lo hacen[4]. Finalmente, más de un tercio de los casos de hemofilia B son CRM positivos, con factor IX disfuncionante, valor antigénico normal y formas clínicas desde moderadas a graves (factor IX Cambridge, factor IX Oxford, Factor IX Chapel Hill, factor IX Vancouver y hemofilia Bm[5-10]).

Transmisión

Las hemofilias son enfermedades recesivas ligadas al sexo, que afectan de manera casi exclusiva a varones, es decir hemicigotos que portan un gen defectuoso, o alelo mutado en su cromosoma X. Por otro lado, las mujeres transmiten el defecto sin padecer la enfermedad, y aunque la homocigosidad en mujeres es posible, su frecuencia se estima en 3/1 billón[11]. Otras causas de déficit del factor VIII en las mujeres son: enfermedad de Von Willebrand, alteración genética en fenotipo femenino portadora de alelo mutado en su cromosoma X [feminización testicular (46,XY), síndrome de Turner (45,X0), mosaicismo (46,XX/X0), isocromosoma X e isocromosoma Y], lionización extrema en mujer portadora y, finalmente, deleciones, inversiones o translocaciones que afectan al cromosoma X no portador del gen de la hemofilia.

Las hijas de pacientes hemofílicos serán portadoras de la enfermedad en el 100% de casos, mientras que los hijos varones ni transmitirán ni padecerán la enfermedad. La descendencia de mujeres portadoras tiene, en caso de ser varón, el 50% de posibilidades de padecer la enfermedad, y en caso de ser mujer, el 50% de transmitirla. En el 30-40% de casos de hemofilia, no existe historia familiar de esta enfermedad. Esto puede ser debido a la transmisión del estado de portador a través de varias generaciones de mujeres, sin que haya varones afectados, o a mutaciones *de novo*.

Detección de portadoras y diagnóstico prenatal

La detección de mujeres portadoras de hemofilia es determinante en el consejo genético a una determinada pareja (riesgo de hemofílicos/portadoras en su descendencia), y en su política de planificación familiar.

Son seguras portadoras las mujeres hijas de hemofílico, madres de más de un hemofílico en diferentes partos, y las madres de un hemofílico con evidencia de por lo menos otro familiar hemofílico por vía materna. Son posibles portadoras las mujeres con evidencia de algún familiar hemofílico por vía materna (aunque no tengan hijos hemofílicos), y aquellos con un hijo hemofílico (aún sin historia familiar de hemofilia).

Además de la historia familiar, la determinación de la actividad biológica (antigénica y funcional) de los factores VIII y IX, descendida en muchas mujeres heterocigotas permite una estimación de la probabilidad de transmitir la enfermedad. No obstante, el solapamiento de valores entre portadoras y población sana no permite un diagnóstico de certeza, el cual requiere técnicas de diagnóstico genético.

La tecnología de DNA recombinante ha sido un impacto revolucionario no sólo en el diagnóstico de enfermedades monogénicas, como la hemofilia, sino también en la producción de factores recombinantes e incluso en la esperanza de la terapia génica. Debido a las dificultades en la detección directa de los defectos moleculares responsables y a la elevada incidencia de mutaciones nuevas (sirva de ejemplo más de 800 mutaciones puntuales descritas en hemofilia B), generalmente el análisis genético se realiza de modo indirecto mediante el estudio de los polimorfismos del DNA tanto de marcadores intragénicos como de ligamientos extragénicos.

El análisis de los fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFPL), de los minisatélites o número variable de secuencias repetidas en tándem (VNTR) y de los microsatélites (STRP), se realizaba antes de 1987 por *southern blotting*, y actualmente por PCR, método más rápido y fiable. Constituyen limitaciones a esta técnica la necesidad de estudiar a varios miembros de la familia, que la madre sea heterocigota para el poliformismo, que los haplotipos sean concluyentes y la existencia de un 3-5% de *crossing-over*. En los pocos casos en los que se conoce la mutación responsable, la amplificación por PCR y posterior digestión con enzimas de restricción, e incluso secuenciación, evita estos inconvenientes.

El diagnóstico prenatal se realiza hoy día mediante el estudio de DNA fetal, tras la biopsia de vellosidades coriónicas entre las semanas 8.ª y 12.ª de gestación. La tasa de abortos es inferior al 3%. En familias en las que las técnicas genéticas no son informativas (menos del 5% en hemofilia A y raza caucásica, pero hasta el 10% en hemofilia B, y hasta el 30% en otras etnias)[12,13], el método de elección (y, en otros casos, de confirmación) es la determinación en sangre fetal de los factores VIII y IX (antigénico y funcional). Se realiza en el segundo trimestre, y algunos laboratorios han establecido valores de referencia[14]. Actualmente, las modernas técnicas de fertilización *in vitro*, elección de sexo y diagnóstico preimplantación han sido trascendentales para la prevención de la hemofilia.

Sintomatología

El síntoma crucial en la hemofilia son las hemorragias; todas las demás manifestaciones del enfermo son su consecuencia. Los síntomas generales de fiebre y anemia, frecuentes en el enfermo hemofílico, son secundarios a las hemorragias. La fiebre se debe al síndrome tóxico que origina la resorción de la sangre extravasada. La anemia es consecuencia de la pérdida de sangre; aunque ésta no se exteriorice, pueden producirse hematomas que contengan 1 litro de sangre o incluso más. Estos dos síntomas, junto con el dolor debido a la compresión de los hematomas y la hemartrosis, contribuyen al estado de inquietud y angustia tan típico del enfermo hemofílico en fase hemorrágica. También merece atención el trastorno psíquico frecuente en el hemofílico que, aunque indirectamente, también es consecuencia de los accidentes hemorrágicos. Las hemorragias aparecen con frecuencia en el enfermo hemofílico por causas mínimas que en los individuos normales pasan inadvertidas y, una vez han aparecido, no tienden a cesar de modo espontáneo. La persistencia del origen de las mismas, objetivable o no, tiende indefectiblemente a las recidivas locales, lo que ocurre con frecuencia en las hemartrosis.

Las hemorragias pueden clasificarse, según su localización, en externas e internas. Entre las externas cabe distinguir las cutáneas y las mucosas. De estas últimas hay que citar, en primer lugar, las hemorragias de la cavidad bucal y las epistaxis. Mucho menos frecuentes son las hemorragias digestivas. Hay que considerar también, entre las hemorragias externas mucosas, las de origen vesical debidas, la mayoría

de las veces, a cálculos que, aunque pequeños, pueden provocar lesiones mínimas en las vías urinarias, capaces de originar intensas hematurias.

Se consideran hemorragias internas aquellas en las que la sangre queda en una cavidad preformada del organismo o se filtra a los tejidos determinando hematomas.

Entre ellas hay que considerar las hemorragias subcutáneas, que se presentan por traumatismos locales o por prolongación de hemorragias distales, los hematomas del tejido conjuntivo y las hemorragias serosas y musculares. Este último tipo de accidentes puede producirse por una herida externa, por inyecciones intramusculares o por traumatismo cerrado; la mayoría de las veces su causa es bien evidente y, con menos frecuencia, se debe a pequeños traumatismos que pasan inadvertidos y que el enfermo considera hematomas espontáneos. La sintomatología local de los hematomas intramusculares consiste, aparte de la tumefacción, en dolor debido a compresión de vasos y nervios. Estas compresiones pueden ocasionar lesiones necróticas y parálisis, de intensidad y extensión variables. Si la colección no puede abrirse camino hacia las capas superficiales, cabe apreciar a la palpación la tumefacción dolorosa, con acentuada tensión de la piel, circulación colateral y elevación de la temperatura local. Cuando la sangre tiene salida hacia las capas superficiales, la sintomatología de tensión disminuye, y en los hematomas del psoas ilíaco puede originar un cuadro muy similar al de una psoitis o al de un absceso apendicular retrocecal. Los músculos más afectados son los psoas ilíacos, gemelos, cuádriceps, femorales, bíceps y grandes dorsales. La sintomatología compresiva de los hematomas musculares depende de la localización del hematoma, pudiendo producir síndromes compartimentales: la afectación del músculo psoas ilíaco puede dar lugar a la parálisis del nervio crural; los hematomas del glúteo, a parálisis del ciático, y los de la cara palmar del antebrazo, a parálisis del mediano, el radial o el cubital, que puede originar el síndrome de Wolkman.

Entre los hematomas del tejido conjuntivo destacan por su importancia clínica los de la celda renal, los del suelo de la boca y los retroorbitarios. En casos de hematomas abdominales, pueden aparecer síntomas peritoneales (vómitos, rigidez de la pared, meteorismo), y a veces puede palparse una tumoración en el hipogastrio. En estas situaciones es necesario el diagnóstico diferencial con un síndrome peritoneal (perforación intestinal o absceso apendicular). Los hematomas del suelo de la boca son consecuencia, generalmente, de un accidente dentario o de una intervención sobre las amígdalas, y pueden impedir la deglución y la respiración. El hematoma retroorbitario es el pronóstico mucho más reservado; su gravedad se debe a la protuberancia del ojo y a la posibilidad de la ulceración de la córnea, pero sobre todo a la compresión del nervio óptico, cuya atrofia puede conducir a la ceguera.

Las hemorragias en los parénquimas son infrecuentes, y sólo la autopsia puede ponerlas de manifiesto cuando han escapado a la observación clínica. En las serosas hay que considerar las hemorragias de la pleura y del peritoneo. Las hemorragias cerebromeníngeas no son excepcionales, y se han descrito formas mortales de hematomas subdurales y hemorragias meníngeas.

Entre las hemorragias de las serosas merecen atención especial las hemartrosis. Las hemorragias intraarticulares constituyen una de las manifestaciones más características y frecuentes de las formas graves. Las grandes articulaciones son las más afectadas, especialmente el codo, el tobillo, la cadera y, en particular, la rodilla. Mientras que un solo episodio hemorrágico puede no originar una alteración permanente en la articulación, las hemartrosis recurrentes conducen a una intensa proliferación de la membrana sinovial, que produce hemorragias más frecuentes, y finalmente, una sinovitis crónica. Cada nueva hemorragia origina un mayor grado de sinovitis y de contractura en flexión de la articulación. De modo progresivo, aparecen atrofia muscular y de ligamentos, estrechamiento de la interlínea articular y destrucción del cartílago.

Una lesión hemorrágica peculiar, aunque no frecuente, es el *seudotumor*, que consiste en una colección de sangre encapsulada, generalmente debida a hemorragia recurrente extraarticular en huesos o partes blandas. El crecimiento progresivo del hematoma conduce a compresión y destrucción de las estructuras adyacentes. No existen normas establecidas de tratamiento, por lo que se han empleado varios recursos: cirugía, terapéutica sustitutiva, irradiación local y tratamiento conservador. Parece que la cirugía es, en general, el proceder más recomendable.

Diagnóstico biológico

Se basa en la dosificación de la actividad procoagulante correspondiente, bien sea del factor VIII o del IX, que se halla disminuida. De entre las pruebas llamadas globales o rutinarias de la coagulación, el aPTT (tiempo de tromboplastina parcial activada) se halla muy prolongado, dependiendo de la importancia del déficit, mientras que el tiempo de protrombina es normal. En el caso de déficit de FVIIIC, la dosificación concomitante de la actividad del FVW es normal y descarta que dicho déficit sea secundario a una enfermedad de Von Willebrand. Finalmente, deberá descartarse la enfermedad de Von Willebrand tipo 2N (antes llamada *seudohemofilia* o WD tipo Normandy).

La dosificación de los factores VIII y IX se lleva a cabo, generalmente, observando la corrección del tiempo de cefalina de plasmas carentes de estos factores por el plasma problema y plasma normal a distintas diluciones (método en un tiempo). La dosificación de los factores VIII y IX permite la clasificación de las hemofilias en graves (tasa de factor menor del 1%), moderadas (1-5%) o leves (6-40%). En conjunto, las manifestaciones hemorrágicas están en proporción al grado de carencia de estos factores.

Hay que destacar la enorme importancia de una correcta estandarización, así como de los oportunos y periódicos controles de calidad internos y externos de las técnicas utilizadas. Las calibraciones internas contra estándares internacionales son de particular relevancia, así como la aplicación de los esquemas internacionales para cada estandarización[15].

Recientemente, ha cobrado una especial actualidad la dosificación de la actividad de los factores VIII recombinantes, dadas las grandes diferencias observadas al compararlas con la de los factores VIII de procedencia humana. Hoy día se halla universalmente aceptado que esta dosificación debe realizarse mediante sustratos cromogénicos, esto es, técnicas que determinen la actividad amidolítica, mucho más fiables que la técnica coagulométrica para este tipo de factor[16].

Tratamiento farmacológico

El tratamiento propio de la hemofilia se reduce, prácticamente, a la profilaxis y a la cohibición de las hemorragias, en el que ocupa el primer lugar la terapéutica sustitutiva. El tratamiento farmacológico antihemorrágico consiste en antifibrinolíticos sintéticos y un derivado de la vasopresina (desmopresina, o DDAVP), que se utilizan cuando las manifestaciones hemorrágicas son leves, sobre todo en pacientes con hemofilia moderada.

Antifibrinolíticos sintéticos

Se emplean el ácido épsilon-aminocaproico (EACA) y el ácido tranexámico, 1-aminoetil-ciclohexano-4-carboxílico (AMCHA). Ambos pueden emplearse por vía oral, intravenosa y tópicamente. Estos fármacos saturan los lugares de fijación del plasminógeno al activador tisular, interfiriendo en la disolución de la fibrina. El EACA puede administrarse por vía oral o intravenosa en dosis diaria de 300 mg/kg de peso, repartido cada 4-6 h. En el caso del AMCHA son suficientes 30 mg/kg de peso distribuidos en 2 o 3 dosis diarias.

Debe hacerse hincapié en que la utilización de los antifibrinolíticos en las hemorragias del tracto urinario produce, con mucha frecuencia, episodios de dolor cólico secundarios a la formación de coágulos, ya que pueden inhibir poderosamente la acción de la urocinasa. Por otra parte, su administración continuada no suele ir acompañada de efectos secundarios de importancia clínica. En algunas ocasiones, pueden aparecer náuseas y vómitos y, excepcionalmente, exantema cutáneo o sufusión conjuntival. Su eliminación urinaria es rápida, y deben dosificarse con precaución en los pacientes que presenten alteración de la función renal. Si bien no se ha establecido totalmente su posible teratogenicidad, se desaconseja su uso por lo menos durante el primer trimestre del embarazo.

Desmopresina

Se trata de un análogo sintético de la vasopresina (1-deamino-8-D-arginina-vasopresina, DDAVP), desprovisto de efectos vasoactivos en las dosis comúnmente utilizadas. El efecto terapéutico se atribuye a un incremento del factor VIII y del FVW, principalmente del primero, que puede alcanzar hasta 4 y 5 veces los valores basales.

El aumento de estos parámetros plasmáticos es de corta duración (6-8 h, e incluso menos), volviendo rápidamente a los niveles previos a la infusión del fármaco. La respuesta a la administración de DDAVP en dosis repetidas cada 12 horas, aunque parece depender de una variabilidad individual, ocasiona una progresiva disminución del incremento del FVIII y FVW. La vía más utilizada es la intravenosa, pero también se puede administrar por vía subcutánea y nasal. La intensidad de la respuesta inducida por vía intravenosa y subcutánea es similar, aunque por esta segunda vía de administración es algo más lenta y mantenida. Por el contrario, mediante inhalación, la respuesta es heterogénea, e inferior a la de las otras dos vías. Se administra en dosis de 0,3-0,4 µg/kg de peso, que suele ser bien tolerada, y que sólo ocasionalmente produce un ligero aumento en la frecuencia del pulso y un moderado enrojecimiento facial, sin apreciarse cambios significativos en los valores de tensión arterial. En muy raras ocasiones, este tratamiento ha causado retención de líquidos, con la consiguiente sobrecarga circulatoria, debido a sus propiedades antidiuréticas. La ventaja primordial de esta medicación sobre el tratamiento sustitutivo es la carencia del riesgo de transmisión de enfermedades víricas.

Otros

Con frecuencia se requiere este tipo de medicación en la atención de los hemofílicos, a pesar de que carece de efecto hemostático.

Los corticoides pueden utilizarse en cortos períodos para reducir la tumoración edematosa alrededor de hemorragias agudas o la inflamación sinovial. Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) en ocasiones han proporcionado ayuda, aliviando la sintomatología de la artropatía degenerativa hemofílica.

En ocasiones, se requieren analgésicos para combatir el dolor crónico. La morfina y sus análogos son necesarios a veces para el dolor intenso de grandes hemorragias agudas, especialmente en los adultos. El ácido acetilsalicílico está contraindicado debido a su efecto irreversible sobre el funcionalismo plaquetario.

Tratamiento sustitutivo

Se basa en la administración de distintos concentrados de factores antihemofílicos. En la actualidad, se dispone de dos tipos de preparados: los derivados del plasma humano y los que se obtienen mediante tecnología recombinante. Los primeros han sido sometidos a distintas manipulaciones para evitar la contaminación vírica: calentamiento en fase sólida, pasteurización, calentamiento en suspensión en un disolvente orgánico (cloroformo o n-heptano), calentamiento en presencia de vapor a alta presión, tratamiento con una mezcla de un solvente orgánico y un detergente y purificación mediante técnicas cromatográficas.

En los últimos años, se ha extendido progresivamente en nuestro país el uso del factor VIII obtenido mediante tecnología recombinante. Tanto en los estudios clínicos previos a su comercialización, como con posterioridad a la misma, estas proteínas han demostrado, hasta el momento, su efectividad (equiparable a la de los concentrados plasmáticos) y su inocuidad en cuanto al desarrollo de enfermedades transmisibles, con la salvedad actual de la aún hoy incógnita que representan las enfermedades transmitidas por priones, que son analizadas en el Capítulo 40. A este respecto, cabe recordar que los concentrados de FVIII recombinante llamados de primera generación presentan albúmina humana en su formulación final como agente estabilizador; otro concentrado (éste de segunda generación), muy recientemente comercializado en nuestro país, que carece de la mayor parte de dominio B en su molécula, no utiliza la albúmina en su formulación final, pero sí en algunos puntos del proceso de producción. Otro aspecto de máxima importancia en este tipo de factores es que no presentan diferencias significativas de los de origen plasmático en cuanto a la incidencia en el desarrollo de inhibidores[17], como han demostrado los extensos estudios realizados en pacientes no tratados previamente.

La realización adecuada del tratamiento sustitutivo depende de la tasa inicial del factor deficiente, de su duración *in vivo*, de la actividad del producto inyectado y del volumen plasmático del receptor. La valoración cuantitativa del efecto terapéutico se realiza en unidades de actividad de factores antihemolíticos. Se considera como una unidad la actividad de factor contenida en 1 mL de plasma normal. La vida

media del factor VIII es de unas 12 horas, y el aumento del nivel alcanzado después de una administración de una unidad por kilogramo de peso es, aproximadamente, del 2,4%, considerando que el volumen plasmático es de 40 mL/kg de peso. El factor IX tiene una vida media de 24 horas, pero el valor logrado tras la infusión de una unidad es menor que el alcanzado por el factor VIII en la hemofilia A.

Teniendo esto en cuenta, la norma de todo tratamiento sustitutivo en la hemofilia A se basa en administrar una primera dosis, y a partir de las 8 horas de la inyección, momento en el cual el valor del factor VIII habrá descendido a un 25% del conseguido después de la inyección, continuar con dosis consecutivas cada 12 horas para mantener los niveles anteriormente alcanzados, si bien suelen utilizarse regímenes con infusiones más espaciadas en los tratamientos de pacientes ambulatorios, con excelentes resultados. En la hemofilia B, aproximadamente todas las dosis han de ser un 25-50% más elevadas que las empleadas en la hemofilia A, pero a partir de la segunda dosis los intervalos entre infusiones pueden establecerse cada 24 horas.

Limitaciones del tratamiento sustitutivo

Entre las complicaciones originadas por el tratamiento sustitutivo merecen citarse, como más trascendentes, la transmisión viral y la aparición de inhibidores.

Transmisión de enfermedades virales

Las hepatitis por los virus B y C, con posibilidad de evolución en muchos casos a formas crónicas, son muy frecuentes en los pacientes adultos politransfundidos. El 15-20% de las hepatitis crónicas por el virus C pueden desencadenar cirrosis o carcinoma hepatocelular después de los 20 años. El tratamiento de este tipo de hepatitis con interferón muestra resultados similares en los hemofílicos que en los enfermos no hemofílicos contaminados por transfusión. La detección de los marcadores del VIH y de las hepatitis B y C como método de detección de portadores en los procesos de obtención y fraccionamiento de hemoderivados constituye en la actualidad el primero de una serie de eslabones en la profilaxis de la contaminación terapéutica.

La vacunación de la hepatitis A y B debe administrarse a todos los hemofílicos que no son seropositivos. La administración subcutánea de las mismas no ocasiona problemas hemorrágicos de relevancia.

La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) se produce actualmente en el 90% de los pacientes adultos con hemofilia grave, una parte de los cuales han desarrollado el síndrome de inmunodeficiencia adquirida. En muchos hemofílicos graves existe un estado de inmunodepresión con disminución de los linfocitos CD4 positivos, debido, en parte, a la exposición a los virus de la hepatitis y al VIH, pero posiblemente también a la cantidad de concentrado de factor transfundido. La infección por el VIH prácticamente ha desaparecido en los hemofílicos nacidos después del año 1983, dado que desde entonces se aplican técnicas de calentamiento que inactivan el virus.

Aparición de inhibidores frente a los factores VIII y IX

La aparición de un inhibidor frente a los factores VIII o IX en la hemofilia A o B, respectivamente, como consecuencia del tratamiento sustitutivo, constituye una de las principales complicaciones del tratamiento de la hemofilia, al neutralizar aquel al factor correspondiente.

Todavía se discute la incidencia de esta complicación en los pacientes tratados con factor, aunque la mayoría de estudios prospectivos realizados arrojan cifras de alrededor del 20%, tanto en el caso de tratamientos con factor derivado del plasma como en el de factores recombinantes. Por lo general, aparece en pacientes con hemofilia grave (factor VIII o IX, < 1 U/dL), y en la mayor parte de los casos, en las primeras infusiones y/o en las primeras semanas de tratamiento. Es infrecuente la aparición de un inhibidor en pacientes que ya llevan mucho tiempo en tratamiento con factor. Cada vez parece más clara la existencia de factores genéticos predisponentes a la aparición del inhibidor, quizás a través de alteraciones genéticas que produzcan una alteración en el funcionalismo de las citocinas o de sus receptores.

La medición de la inhibición de la actividad coagulante del factor VIII (titulación del inhibidor) se realiza teniendo en cuenta que la reacción tiene características dependientes del tiempo y de la temperatura (método Bethesda), y se expresa en Unidades Bethesda (UB).

Ante una situación hemorrágica en un paciente con inhibidor, su manejo dependerá, en primer lugar, del título de inhibidor circulante. En casos de bajo título (< 10 UB) puede conseguirse la neutralización del inhibidor con infusión de dosis suficientemente elevadas de factor; algunos autores compaginan esta actuación con la administración de inmunosupresores[18]. La infusión de grandes dosis de factor se hace más difícil en el caso de inhibidores contra el factor IX, por cuanto existe una elevada probabilidad de aparición de reacciones anafilácticas. En el caso de inhibidores de elevado título, se han intentado diversos tratamientos con diverso éxito, entre los que destaca en la actualidad la infusión de factor VII activado recombinante (rVIIa). Con anterioridad a la disponibilidad del rVIIa, se habían usado otras alternativas, como concentrados de complejo protrombínico activado (aPCC) y factor VIII porcino. En el caso del aPCC, los resultados han sido muy variables, y tiene el inconveniente de poder activar los procesos de la coagulación en la circulación, pudiendo dar lugar a importantes efectos secundarios, como procesos tromboembólicos o incluso hasta coagulación intravascular diseminada, ya que, entre otras sustancias, llevan factores activados (VIIa, IXa, Xa). El uso del FVIII porcino suele dar lugar a reactividad cruzada con el inhibidor, dada su similitud con el FVIII humano, así como trombocitopenia. Otros métodos consisten en disminuir primero el título de inhibidor (plasmaféresis, inmunoabsorción) e infundir grandes dosis de FVIIIC una vez conseguidos unos títulos bajos del mismo.

El rVIIa, aun siendo un factor activado de la coagulación, no es enzimáticamente activo por sí solo, y no desencadena los procesos de activación en su fase circulante. Requiere la presencia de factor tisular, por lo que se ha postulado que su acción proteásica se limitaría a áreas localizadas. Su eficacia en todo tipo de hemorragias ha demostrado ser muy buena en los estudios clínicos previos a su comercialización[19], siendo mucho menos frecuentes e importantes sus efectos adversos, en comparación con los aPCC y FVIII porcino.

Aparte del tratamiento de un síndrome hemorrágico propiamente dicho en el paciente con inhibidor, se han dedicado considerables esfuerzos a la erradicación del mismo. Diversos protocolos de inmunotolerancia sugieren que alre-

dedor de dos tercios de los pacientes pueden erradicar el inhibidor tras períodos variables de infusión de FVIIIC a altas dosis[20]. También se han descrito otros protocolos combinados con el uso de la plasmaféresis, infusión de IgG, inmunosupresores e infusión de FVIII.

Profilaxis primaria

Se denomina así a la infusión continuada (desde los 1-2 años de edad) de factor VIII o IX a pacientes con expresión fenotípica grave (factor circulante < 1 U/dL), con el fin de conseguir un comportamiento moderado de la enfermedad a lo largo de, como mínimo, toda la etapa de crecimiento del paciente. En la actualidad, si bien este *desideratum* no se halla en discusión como tal[21], no existe todavía un acuerdo absoluto en los regímenes de infusión que deben aplicarse. La utilización del término «primaria» para designar este tipo de profilaxis, aunque amplia, no es universal. No obstante, existen hoy día algunas dificultades de importancia considerable que han restringido el uso de este régimen de actualización: por un lado, el elevado coste del mismo y, por otro, la necesidad de la persistencia de los accesos venosos. También se halla todavía en discusión el momento del inicio, considerando algunos autores que debe realizarse antes de que aparezca la primera hemartrosis, mientras que otros defienden otros criterios (p. ej., después de la segunda hemartrosis). Quizás en un futuro estos problemas dejen de existir, bien sea por el uso de la terapia génica, bien por el de eventuales vías de administración menos invasivas[22].

Profilaxis secundaria

Se refiere también a la infusión continua de factor, pero durante un período de tiempo mucho más corto que en el caso de la primaria, y con el objeto de prevenir hemorragias que se hayan mostrado frecuentes, o bien por ser de localización comprometida.

Profilaxis en cirugía

Consiste en aportar el factor deficitario con el fin de lograr un porcentaje de actividad que depende de la importancia del riesgo de hemorragia local. En general, se admite que la obtención de niveles mínimos del 30-40% de factores antihemofílicos A y B permite una hemostasia quirúrgica normal. Es necesario obtener una tasa elevada en el momento mismo de la intervención, con el fin de asegurar una excelente hemostasia de primera intención, que es el mejor medio de prevenir las complicaciones hemorrágicas secundarias. Pero el tratamiento debe continuarse durante el postoperatorio, y no interrumpirlo hasta la cicatrización de la herida, teniendo un cuidado especial cuando se desprenden las escaras, porque aumenta el riesgo de hemorragia.

En casos de intervenciones muy leves, como avulsión de una o dos piezas dentarias, se aconseja que el tratamiento sustitutivo sea tal que la menor tasa del factor antihemofílico sea del 15%. Sin embargo, si no se extrae más de una pieza dentaria, en algunos casos puede evitarse la terapéutica sustitutiva administrando antifibrinolíticos sintéticos (EACA y AMCHA). También (en el caso de hemofilias A moderadas o leves) puede obtenerse un efecto hemostático suficiente mediante DDAVP. Se administra por vía intravenosa en dosis de 0,3-0,4 µg/kg de peso cada 6 horas.

En cirugía menor (sutura de heridas, herniorrafia, apendicectomía, hemorroidectomía) se considera que el nivel de factor antihemofílico sólo puede descender hasta 25 U/dL. En cirugía mayor y cirugía ortopédica, la mínima tasa de factor antihemofílico (la existente en la circulación inmediatamente antes de la siguiente infusión) ha de ser de 40 U/dL. Con este criterio, en un enfermo con menos de 1 U/dL de factor VIII sometido a hemorroidectomía, la prevención de hemorragia se hará de manera que la dosis inicial será de 60 U/kg de peso, para que el nivel del factor VIII en plasma alcance 100 U/dL. En los enfermos con deficiencia de factor IX, aunque requieren dosis menos frecuentes de material terapéutico, cada dosis debe ser un 25-50% más elevada.

Actitud terapéutica ante los accidentes hemorrágicos

La actitud a adoptar frente a las hemorragias de los hemofílicos depende, en gran parte, de su localización. Si son fácilmente accesibles o no afectan a órganos vitales, no es necesaria una normalización completa y continuada de la hemostasia del enfermo. Así, una hemorragia por una herida incisocutánea posiblemente se detenga con medidas compresivas locales.

En hemorragias externas, principalmente por avulsiones de una o dos piezas dentarias, o epistaxis de moderada intensidad, puede ser de utilidad el tratamiento con antifibrinolíticos sintéticos, que logra un efecto hemostático no inmediato ni brusco sino gradual, en el espacio desde unas horas hasta 2 o 3 días. Otra opción disponible de entre el arsenal terapéutico no sustitutivo es la desmopresina (DDAVP) que, como se ha dicho, puede tener un efecto hemostático generalmente superior al de los antifibrinolíticos sintéticos, aunque por un mecanismo completamente distinto.

La terapéutica sustitutiva es el proceder más radical y al que hay que recurrir en la mayoría de los accidentes hemorrágicos. Si la zona donde se produce la hemorragia es fácilmente accesible o no afecta a órganos vitales, no es necesario transfundir una gran cantidad del factor deficitario en el enfermo. La detección de las hemorragias es fácilmente percibida cuando son externas; si son internas, hay que valerse de signos indirectos, más difíciles de valorar (disminución de la taquicardia y de la palidez). Cuando las hemorragias se producen en zonas que causan tensión, la desaparición del dolor ocasionado por la compresión de la sangre extravasada es signo indicativo de que la hemorragia ha cesado.

En las hemorragias que afectan a órganos vitales y cuya localización es inaccesible, el reemplazo del factor deficitario deberá conseguir, antes de una nueva dosis, unos niveles mínimos circulantes superiores a 50 U/dL. Se trata especialmente de hemorragias cerebromeníngeas, hematomas del suelo de la boca, hemartrosis importantes, hematomas intraorbitarios o a nivel de los flexores, que entrañan flexión forzada de la mano y de los dedos a menudo duradera, hematomas de los músculos lumboabdominales y hemorragias retroperitoneales. El método de tratamiento sustitutivo en estos casos es el descrito para la profilaxis en las intervenciones quirúrgicas.

En general, aunque en la mayor parte de accidentes hemorrágicos es imprescindible la inmovilización absoluta (aunque de corta duración), que contribuye al cese de la hemorragia y del dolor, ésta sólo se logra mediante la instalación de una férula de yeso.

Las hemartrosis, por su frecuencia y por las secuelas a que conducen, merecen especial atención. Por leves que sean,

requieren tratamiento sustitutivo que garantice el cese de la hemorragia. La ausencia de tratamiento ocasiona una progresión y una recurrencia de la hemorragia, y las hemartrosis recurrentes conducen a una intensa proliferación de la membrana sinovial, causando indefectiblemente sinovitis crónica. Debe establecerse un tratamiento sustitutivo precoz con el fin de que la hemorragia cese lo más pronto posible y evitar que mayores cantidades de sangre invadan la articulación. Este tratamiento precoz requiere la organización de la terapéutica en el domicilio del enfermo, pues implica la inyección del material sustitutivo a los pocos minutos de que se inicie la sintomatología subjetiva de hemorragia, por lo que se requiere la conservación del concentrado del factor en el domicilio y la autotransfusión o la infusión por un familiar del enfermo o por el propio paciente, además de un íntimo contacto con el Centro especializado al que éste se halle afiliado. Los resultados de este proceder son excelentes, aunque se requiere una especial predisposición y disciplina por parte del enfermo y de sus familiares.

En el tratamiento de la hemartrosis aguda la punción aspiradora de la articulación es controvertida, aunque últimamente parece prevalecer el criterio de puncionar una articulación fluctuante mediante protección simultánea con tratamiento sustitutivo. Existirá indicación indiscutible de punción aspiradora cuando el compromiso neurovascular o cutáneo sea inminente. Las contraindicaciones de la aspiración incluyen: *a*) presencia de inhibidores; *b*) infección de la piel que rodea la articulación; *c*) falta de experiencia o ausencia de los requisitos adecuados para su correcta realización, y *d*) falta de cooperación del enfermo o de sus familiares.

La inmovilización es importante hasta que todos los signos inflamatorios de la articulación hayan cesado por completo; de lo contrario, es altamente probable la recurrencia de las hemorragias. Una de las ventajas que se atribuyen al tratamiento de la hemartrosis aguda mediante punción aspiradora es que el período de inmovilización no suele ser superior a 3-4 días, lo que disminuye el riesgo de atrofia muscular. En los días que siguen a la inmovilización procede practicar reeducación muscular y articular. Asimismo, es aconsejable mantener algún tiempo la inmovilización en férula durante la hiperplasia sinovial por hemartrosis repetidas, que a su vez conduce a un aumento de la recurrencia de las hemartrosis; se ha ensayado eliminar la sinovial hiperplásica, ya sea quirúrgicamente (sinovectomía) o produciendo una esclerosis de la misma por inyección intraarticular de ácido ósmico o de productos radiactivos.

De lo expuesto se desprende que la terapéutica sustitutiva precoz es el proceder en que se basa el tratamiento actual de los accidentes hemorrágicos graves del enfermo hemofílico.

Tras la progresiva obtención y desarrollo de nuevos y mejorados productos sustitutivos, el siguiente reto es conseguir, mediante terapia génica, que cada enfermo posea unos niveles de seguridad del factor deficiente de modo constante. En la actualidad, sin embargo, la disponibilidad generalizada de este tratamiento tiene que esperar a la resolución, por una parte, de una gran variedad de problemas técnicos, y por otra parte, a la conclusión de los estudios clínicos pertinentes.

ENFERMEDAD DE VON WILLEBRAND

Se considera enfermedad de Von Willebrand el trastorno congénito transmitido autosómicamente, que conduce a déficit cuantitativo y/o cualitativo de FVW. Probablemente, es la hemopatía congénita más frecuente, con una incidencia cercana al 1% de la población[23]. La enfermedad con significancia clínica es mucho más infrecuente, y afecta aproximadamente a 125 pacientes por millón de habitantes.

Genética molecular

El FVW es una glucoproteína de gran tamaño que se sintetiza en las células endoteliales (CE) de los vasos y en los megacariocitos que se presenta en forma multimérica con pesos moleculares que oscilan entre 500 y 20.000 kDa.

El FVW formado en la CE es secretado a la circulación y a la matriz subendotelial, secreción que está relacionada con la síntesis de proteína o es almacenado en los gránulos denominados cuerpos de Weibel-Palade, de los cuales se libera por estímulos apropiados (ejercicio, inyección de agentes como la adrenalina, vasopresina o derivados y ácido nicotínico). El FVW de los megacariocitos se almacena en los gránulos α de las plaquetas para su secreción cuando tiene lugar la activación plaquetaria. El FVW que, de un modo u otro, tiene capacidad funcional está localizado en la CE, el subendotelio vascular, el plasma y las plaquetas.

El gen del FVW clonado en la década de 1980 está situado en el brazo corto del cromosoma 12, compuesto por 178 kb y 52 exones. Un seudogen no funcional situado en el cromosoma 22 se extiende del exón 23 al 34[24].

El producto primario del gen *FVW* es una proteína de 2.813 aminoácidos (aa), compuesta por un péptido señal de 22 aa (prepéptido), un propéptido de 741 aa, y una subunidad madura de FVW compuesta por 2.050 aa. Diferentes regiones de la proteína, correspondientes a los cuatro dominios repetidos de cDNA (D1, D2, D', D3, A1, A2, A3, D4, B1, B2, B3, C1, C2), son los responsables de la unión con el factor VIII (D', D3), GPIbα, heparina y colágeno (A1), colágeno (A3), y GPIIb/IIIa (secuencia de aa RGD Arg-Gly-Asp entre los aa 1744-1746). El extremo carboxiterminal y el dominio D3 son imprescindibles para la formación de los multímeros de FVW.

Las alteraciones genéticas asociadas a EVW son de varios tipos: deleciones, inserciones, generación de codones de terminación, y sobre todo mutaciones puntuales. Dado el complejo procesamiento del FVW, es posible que existan alteraciones fuera de este gen, pero por definición y al menos de momento, se reserva el nombre de EVW para aquellas situaciones motivadas por alteraciones del *locus* genético del FVW[25].

Del mismo modo que en la hemofilia, el diagnóstico genético se lleva a cabo mediante el análisis de diversos marcadores polimórficos de DNA (fragmentos de restricción de longitud polimórfica o FRLP) que, al igual que la demostración del defecto genético concreto (cuando es posible), contribuyen con el estudio fenotípico al diagnóstico y consejo genético en la EVW. El diagnóstico prenatal está justificado en los pocos casos de sospecha de homocigosidad (tipo 3, o ambos padres heterocigotos) y posibilidad de clínica hemorrágica importante.

En el tipo 1 de EVW, a pesar de que se trata de la forma más frecuente, apenas se han hallado alteraciones genéticas responsables. Las escasas alteraciones descritas se heredan de forma autosómica dominante[26,27], excepto algunos casos recientemente descritos de formas recesivas[28,29]. En estas

familias, los individuos heterocigotos presentan una mínima tendencia hemorrágica, mientras que los que han heredado dos alelos mutados presentan formas clínicas más graves[26]. Se postula que no sólo los defectos genéticos sino también factores no genéticos (grupo sanguíneo ABO y otros factores ambientales) contribuyen a la gran variabilidad y penetrancia incompleta de esta entidad.

En el subtipo 2A la mayor parte de las mutaciones descritas (de herencia autosómica) se localizan en el dominio A2, y unas pocas en los dominios A1, D2 (antigua forma IIC, recesiva), D3 (antigua IIE) y extremo carboxiterminal (antigua IID). Mientras unas mutaciones condicionan una alteración en la secreción de los multímeros de alto peso molecular, por defectos en el transporte intracelular, otras dan lugar a multímeros más susceptibles a la proteólisis *in vivo*.

En la EVW tipo 2B casi el 90% de las mutaciones se encuentran localizadas en el bucle del dominio A1, entre los aa 540 y 570[30,31]. También se heredan de forma autosómica dominante.

En el subtipo 2M, se han identificado muy escasas mutaciones en el dominio A1, y una mutación recurrente que afecta de manera exclusiva a familias del área de Vincenza (dominio D3)[30-33]. Condicionan una alteración en la interacción del FVW con plaquetas o tejido conjuntivo.

Finalmente, en las formas 2N, mutaciones de la región N-terminal (dominios D' y D3) condicionan una unión deficiente con el factor VIII. En estas formas (factor VIII descendido), es de vital importancia el diagnóstico genético para excluir el estado de portador de hemofilia A.

En la EVW tipo 3, de herencia autosómica recesiva, los estudios moleculares han revelado grandes defectos genéticos (deleciones completas o parciales del gen) o mutaciones por codón de terminación. La homocigosidad para la deleción se ha relacionado con el desarrollo de inhibidores frente al FVW, con la consiguiente dificultad en el manejo de estos pacientes[30].

La subunidad básica de FVW deriva de la proteína inicial, denominada pre-pro-Von Willebrand, constituida por 2.813 residuos de aminoácidos (aa) la cual, en el retículo endoplasmático, se libera de los 22 primeros aa y se dimeriza rápidamente mediante puentes disulfuro en la región carboxiterminal de subunidades adyacentes. El dímero resultante se conoce como factor pro-Von Willebrand que, una vez formado, es transportado al aparato de Golgi, donde experimenta la rotura de un pequeño fragmento que existe en la porción aminoterminal de 741 aa y tiene lugar el ensamblaje de los dímeros, formando los multímeros de gran tamaño a través de enlaces disulfuro, en los que están implicados los grupos aminoterminales de subunidades adyacentes, en una configuración cabeza-cabeza. Estas subunidades maduras están formadas por 2.050 aa. Los multímeros de peso molecular anormalmente alto secretados por la célula endotelial se unen a la superficie externa de la misma mediante la P-selectina, donde son inmediatamente procesados por una metaloproteasa, llamada ADAMTS-13 para dar lugar a las formas multiméricas maduras en la circulación.

Función del factor Von Willebrand

Las principales funciones del FVW consisten, por una parte, en mediar en la interacción de las plaquetas con estructuras del subendotelio vascular y, por otra, en estabilizar el factor VIII en la circulación.

La interacción de las plaquetas con la superficie vascular desendotelizada mediante el FVW, tiene lugar a nivel de la microcirculación y de las arterias estenosadas[34,35]. El FVW presente en el subendotelio o depositado allí desde el plasma es capaz de ligarse a la glucoproteína GPIb de la membrana plaquetaria, provocando el contacto de las plaquetas con el subendotelio. El FVW unido al colágeno o a otras estructuras del subendotelio sufre cambios conformacionales responsables de la exposición del receptor de la GPIb. El contacto de las plaquetas con la superficie subendotelial da lugar a un flujo transmembrana de iones de calcio que activa las plaquetas, confiriendo a la GPIIb-IIIa la capacidad de interaccionar con el FVW, así como con otras proteínas adhesivas. De este modo, se consigue que las plaquetas se extiendan sobre el subendotelio formando una monocapa, y también que se unan al FVW que existe en el plasma y al liberado desde las plaquetas, de modo que éstas, cohesionando entre sí, formen agregados. Actualmente, se conocen a nivel molecular los lugares de unión del FVW al colágeno y a las GPIb y GPIIb-IIIa de las plaquetas. Existen lugares de unión para el colágeno en el dominio A1, y el enlace a la GIb ha sido localizado entre los aminoácidos 449-728, zona que se solapa con el bucle A1. El dominio A1 del FVW contiene un bucle creado por enlaces disulfuro entre Cys 509 y Cys 695. El bucle por sí mismo y los residuos que lo flanquean están asociados con la función de unión con la GPIb. El enlace del FVW con la GP IIb-IIIa tiene lugar en la secuencia de aminoácidos RGD (Arg-Gly-Asp), que también interaccionan con otras proteínas adhesivas, como fibrinógeno y fibronectina. Esta secuencia se encuentra entre los aminoácidos 1744-1747.

La unión del FVW con el FVIII estabiliza la proteína del FVIII, la cual, al formar un complejo con el FVW, puede protegerse de la interacción de factores activados como el FXa o la proteína C activada. Al ser el FVW portador del FVIII, los niveles plasmáticos de esta última proteína están relacionados con los del FVW, de ahí que en la enfermedad de Von Willebrand, en la que habitualmente está reducido el nivel del FVW, también se halla una disminución del FVIII. En el FVW se ha demostrado el lugar específico de unión con el FVIII entre los aminoácidos 1 y 272[36].

Clasificación

La clasificación actual entre los distintos tipos de enfermedad de Von Willebrand se basa en la deficiente cantidad y calidad del FVW en el plasma y en las plaquetas[37,38]. Pretende ser lo más simple posible y adaptable a los distintos defectos cuyo conocimiento a nivel molecular se está incrementando, y a las diferentes manifestaciones clínicas. Se distinguen tres grandes grupos de EVW: deficiencia cuantitativa parcial de FVW (tipo 1), deficiencia total (tipo 3) y deficiencia cualitativa (tipo 2).

Tipo 1. Constituye la forma más frecuente de presentación de la enfermedad (70-75% de todas las variedades). Se distingue por el descenso de los niveles antigénico y funcional del FVW en plasma. Su herencia es de tipo dominante. En la mayoría de casos, el FVW plaquetario presenta niveles de antígeno y actividad normales; algunos pacientes presentan ambos niveles descendidos, y los menos, la disminución de la actividad funcional (FVW plaquetario discordante). A pesar de que se trata de la forma más frecuente de EVW, sin embargo se han encontrado escasas alteraciones genéticas, por

lo que sólo se puede especular sobre los mecanismos fisiopatológicos que causan los variados fenotipos.

Así, en el tipo 1 con FVW plaquetario normal, quizás el déficit plasmático sea secundario a un defecto (no necesariamente relacionado con una alteración molecular del FVW) que determine en condiciones de reposo una reducida liberación de la molécula normal, pero que, en cambio, se produzca una liberación masiva frente a distintos estímulos (estrés, anovulatorios, embarazo). En el subtipo con FVW plaquetario también descendido, probablemente exista una reducida tasa de producción del factor y, lógicamente, de su almacenamiento y liberación. Poco se puede especular del subtipo con FVW plaquetario discordante.

Tipo 2. Subtipo 2A. Se presenta con una deficiencia de los multímeros mayores en plasma y plaquetas. Esta deficiencia en el FVW da lugar a un déficit de unión con la GPIb. Se han detectado múltiples mutaciones en la molécula de FVW localizadas en el dominio A2. Las mutaciones en la subunidad de FVW afectan a la síntesis multimérica o a la estabilidad de los multímeros formados, causando desaparición rápida de los grandes multímeros en la circulación, por una determinada susceptibilidad a la proteólisis *in vivo*.

Tipo 2. Subtipo 2B. En este subtipo se incluye un grupo poco frecuente de enfermos (20% del tipo 2) que presentan el FVW plaquetario normal, pero cuyo FVW plasmático muestra la ausencia de los multímeros de alto peso molecular, como consecuencia de su consumo por una afinidad incrementada para unirse a la GPIb. El FVW del plasma se fija a la GPIb de las plaquetas circulantes (lo cual en situación normal, no ocurre), por lo que el receptor plaquetario no está disponible para unirse al FVW depositado en el subendotelio vascular. Esta alteración favorece una rápida eliminación de las plaquetas de la circulación, produciéndose con frecuencia trombocitopenia.

Se incluyen en este subtipo las formas frecuentemente definidas como variantes IIB New York y Malmö (estructura multimérica normal del FVW con hiperreactividad a la ristocetina). Todas estas variedades se heredan de forma autosómica dominante.

Prácticamente, se han identificado todas las alteraciones moleculares responsables de los subtipos 2B estudiados. Consisten en mutaciones agrupadas en el bucle del dominio A1, en la región del FVW que contiene el lugar de unión a la GPIb. Se desconoce el mecanismo de este incremento de la afinidad del FVW por la GPIb.

Subtipo 2M. En este subtipo se incluye un número escasísimo de enfermos en los que el FVW es incapaz de fijarse al subendotelio y, en consecuencia, no se puede activar el lugar de unión a la GPIb en el dominio A1, o aunque se fije al subendotelio, el lugar de unión no se activa. Dos mutaciones en el dominio A1 han suscitado el subtipo 2M.

Subtipo 2N. En este trastorno se han hallado mutaciones, que afectan a los primeros 272 aminoácidos de la molécula, que es donde residen los lugares de unión al FVIII. Se caracteriza por la deficiente formación del complejo de FVW-FVIII, que es necesario para la estabilización y sobrevivencia normal del FVIII en la circulación; los pacientes que sufren este proceso presentan déficit del FVIII con funcionalismo plaquetario normal.

Como se comprende, este tipo de enfermedad puede prestarse al diagnóstico erróneo de hemofilia o de portadores de hemofilia, lo que puede acarrear consecuencias muy indeseables, no sólo en cuanto al tratamiento o profilaxis de estos pacientes sino también desde el punto de vista del consejo genético.

Tipo 3. Este tipo de enfermedad es de muy alto riesgo hemorrágico, debido a que no existe FVW ni en el subendotelio, ni en el plasma, ni en las plaquetas. Se hereda de modo recesivo, y su frecuencia es baja (1-5 casos por millón de habitantes), con variaciones según los diversos países.

Datos sobre la patología molecular del FVW hasta el momento indican grandes defectos genéticos que impiden la expresión de la proteína. En varios casos se han hallado deleciones completas o parciales del gen que codifica la síntesis del FVW. Enfermos del tipo 3 han presentado inhibidor frente al FVW[39,40], habiéndose postulado que la deleción predispone a su aparición[41].

Diagnóstico biológico

Los signos biológicos de la enfermedad de Von Willebrand varían de unos pacientes a otros, incluso entre los miembros de una misma familia.

El diagnóstico biológico se basa en las pruebas que se mencionan a continuación.

Tiempo de hemorragia. La prolongación del tiempo de hemorragia es el primer signo que fue descrito cuando se descubrió la enfermedad en el año 1926, el cual se explica por deficiencia del FVW para conseguir la adhesión de las plaquetas al subendotelio.

La prolongación del tiempo de hemorragia (técnica no estandarizable en la práctica) es inconstante, varía de un enfermo a otro, y no está necesariamente relacionada con la intensidad de la tendencia hemorrágica.

Aglutinación plaquetaria inducida con ristocetina (RIPA). La prueba se realiza en plasma rico en plaquetas del propio paciente y diferentes concentraciones de ristocetina. Esta prueba muestra una agregación deficiente cuando existe un déficit del FVW para reaccionar con la GPIb plaquetaria, dado que la ristocetina suele modificar la molécula de Von Willebrand del plasma, de modo que hace posible esta unión. Este método no diferencia entre una alteración del FVW o la de su correspondiente receptor plaquetario. La mayoría de tipos y subtipos de la EVW se caracterizan por hiporrespuesta a la ristocetina. Son importantes excepciones los pacientes con tipos 2B y seudo Willebrand plaquetario, que se caracterizan, respectivamente, por hiperrespuesta a ristocetina debido a un aumento elevado de afinidad del FVW a la GPIb plaquetaria (tipo 2B) o de la GPIb frente al FVW (seudo Willebrand plaquetario).

Dosificación del FVW. La dosificación de la actividad funcional del FVW o *cofactor de la ristocetina* se realiza mediante una modificación de la prueba de aglutinación plaquetaria inducida con ristocetina en plasma rico en plaquetas del propio enfermo, mencionada anteriormente. En este

caso, se utilizan plaquetas normales formalinizadas, plasma desplaquetizado del paciente y ristocetina.

Determinación de la unión del FVW al colágeno. El FVW actúa como un mediador entre los receptores específicos sobre la superficie plaquetaria (GPIb y GPIIb-IIIa) y el colágeno. La capacidad de unión del FVW al colágeno, que recientemente se ha introducido mediante ELISA, ha mostrado como prueba de cribado significación similar a la determinación del cofactor de ristocetina. Representa una alternativa en el proceso diagnóstico de la EVW, ya que es más sensible y de más fácil realización que el procedimiento del cofactor de ristocetina[42].

También un nuevo método de valoración del funcionalismo de las plaquetas basado en la interacción de éstas con una superficie cubierta de colágeno puede ser útil, sobre todo para descartar la existencia de enfermedad de Von Willebrand[43].

Determinación de la actividad antigénica del FVW. La determinación cuantitativa de la actividad como antígeno del FVW por técnica de inmunoenzimoensayo es un proceder más estandarizable que las técnicas empleadas para detectar la actividad funcional. Es indetectable en el tipo 3m, mientras puede estar disminuida en el tipo 1, y disminuida o normal en el tipo 2.

Estructura multimérica del FVW. Puede ser valorada por electroforesis en gel de agarosa. Los geles de agarosa de baja resolución distinguen muy bien multímeros que convencionalmente son considerados de alto, intermedio y bajo peso molecular. En el tipo 1 todos los multímeros están presentes, mientras en el tipo 2 faltan los de alto e intermedio peso molecular.

Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas más características de la enfermedad de Von Willebrand son las hemorragias mucosas. Ello es consecuencia de la implicación de FVW en el funcionalismo de las plaquetas. Merecen destacar como las más generalizadas, y en ocasiones aparentemente espontáneas, las menorragias, que con frecuencia sean el signo revelador de formas leves o moderadas de la enfermedad, que han permanecido silentes durante la niñez. Le siguen en frecuencia las epistaxis, gingivorragias, hematurias, hematemesis y melenas.

Las hemorragias mucosas de origen no espontáneo suelen aparecer promovidas por determinados traumatismos u operaciones quirúrgicas, en particular en período postonsilectomía, posparto y después de avulsiones dentarias.

Los hematomas de partes blandas se producen principalmente debido a niveles bajos de factor VIII, consecuencia de la pérdida de estabilidad de esta proteína por déficit del FVW y en los infrecuentes casos de tipo 2N (deficiencia del FVW para estabilizar el FVIII). Los hematomas de pared son relativamente frecuentes en poscirugía y con valores de FVIII inferiores al 50%. Incluso pueden aparecer hemartrosis con valores de FVIII inferiores al 5% (como ocurre en la hemofilia A).

Las hemorragias más graves y de aparición más temprana se producen en enfermos afectados de EVW tipo 3 (ausencia prácticamente total de FVW). También se consideran enfermos de alto riesgo los de tipo 2 (cuyo FVW plasmático es disfuncional)[37,38] y los de tipo 1 con niveles bajos de FVW plaquetario[44,45]. En estos enfermos, las hemorragias producidas por extracciones dentarias o cirugía menor pueden llegar incluso o poner en peligro la vida del paciente, y los traumatismos craneales revisten un especial motivo de atención por su elevado riesgo de hemorragia intracraneal. En el infrecuente tipo 2B puede aparecer trombocitopenia por agregación plaquetaria intravascular, dado que en este proceso el FVW plasmático es, normalmente, hiperfuncional.

La variabilidad de las manifestaciones en la EVW es una característica destacable. La frecuencia en la aparición de los síntomas y signos hemorrágicos es variable entre los distintos enfermos, incluso teniendo niveles similares de FVW y FVIII. Mientras que algunos casos pueden considerarse prácticamente silentes, otros presentan accidentes hemorrágicos con cierta asiduidad, y son hasta cierto punto poco previsibles las manifestaciones hemorrágicas secundarias a extracciones dentarias, parto e intervenciones quirúrgicas.

Una característica de las manifestaciones de la enfermedad (a excepción del tipo 3) es su inconstante presentación en un mismo enfermo, que puede deberse a la variabilidad de los niveles de FVW plasmático, lo cual puede deberse, al menos en parte, a que el FVW es un reactante de fase aguda y, por tanto, se incrementa en el plasma (si su síntesis no está ausente) por estrés, embarazo, durante cirugía o por efecto de anovulatorios. El descubrimiento en animales de un gen modificador puede, en el futuro, llevar a una mayor comprensión del fenómeno de variabilidad.

La variabilidad de los niveles plasmáticos del FVW puede, con harta frecuencia, dificultar el diagnóstico de la enfermedad, especialmente en situaciones en las que los valores del FVW se presentan normales en plasma existiendo antecedentes personales o familiares compatibles con la enfermedad, lo que obliga a la repetición de las determinaciones de los niveles de FVW en distintos períodos de tiempo. La variabilidad puede incluso afectar a las alteraciones de la estructura multimérica del FVW, lo cual puede producirse en el tipo 2B, que se caracteriza por la falta de multímeros mayores del FVW, consecuencia de la existencia de anormal hiperfuncionalismo del FVW plasmático.

En el embarazo, en la mayoría de enfermos de tipo 1 se produce un incremento de los niveles de FVIII y FVW en plasma, por lo que prácticamente no existe riesgo hemorrágico. Sin embargo, 24-48 horas después del parto, el nivel de FVW desciende, lo cual puede promover entonces la aparición tardía de las hemorragias. En el tipo 2B, en el embarazo y en el recién nacido puede aparecer hemorragia y trombocitopenia, por incremento del FVW anormalmente hiperfuncional.

Tratamiento farmacológico

Aparte del tratamiento sintomático con antifibrinolíticos sintéticos, el tratamiento específico de la enfermedad de Von Willebrand tiene como objetivos, por un lado, corregir los niveles del FVW en el plasma para, de este modo, conseguir una adecuada formación de agregados plaquetarios en la superficie vascular desendotelizada; y por otro lado, mantener niveles de FVIII adecuados para lograr una suficiente formación de fibrina. La normalización del FVW plasmático es especialmente necesaria ante hemorragias mucosas. Por otra

parte, la corrección de los niveles de FVIII suele resolver los casos de hemorragias de partes blandas. Para estos fines, las opciones terapéuticas de que se dispone son: estrógenos, desmopresina y tratamiento sustitutivo con concentrados plasmáticos. El objetivo de reponer los niveles de FVW funcionalmente normal requiere conocer las características de los distintos tipos de enfermedad de Von Willebrand para la elección, en cada caso, del tratamiento adecuado.

Antifibrinolíticos sintéticos. Esta medicación ocupa, al igual que en las hemofilias, un lugar como terapéutica hemostática sintomática. Se emplean el ácido épsilon aminocaproico (EACA) y el ácido tranexámico (AMCHA), los cuales pueden administrarse por vía oral, intravenosa y tópicamente. Están especialmente indicados en casos de extracciones dentarias, ya que los tejidos implicados tienen un alto nivel de actividad fibrinolítica. Son efectivos en las epistaxis, gingivorragias, hemorragias gastrointestinales y menorragias, ya sea como único hemostático o, en presencia de hemorragias importantes, asociado con desmopresina o como tratamiento sustitutivo.

Desmopresina. Es un análogo sintético de la vasopresina: 1-deamino-8-D-arginina-vasopresina (DDAVP), desprovisto de efectos vasoactivos en las dosis habituales utilizadas, debido a las modificaciones en la molécula de vasopresina. La desmopresina promueve la liberación del FVW y del factor VIII de los lugares de almacenamiento, aunque el preciso mecanismo no ha sido completamente definido. No hay evidencia de que actúe como un agonista sobre los lugares de almacenamiento del FVIII y FVW, pero puede actuar como segundo mensajero o requerir un mediador desconocido hasta el momento. Se ha sugerido que el DDAVP libera, posiblemente desde los monocitos, un segundo mensajero, el cual subsiguientemente causa la liberación del FVW desde las células endoteliales[46]. El efecto terapéutico se atribuye al incremento de los niveles de FVW y FVIII, que pueden alcanzar hasta 4 o 5 veces los valores iniciales.

Para una respuesta efectiva se requiere que el enfermo sea capaz de sintetizar FVW funcionalmente normal. Consecuentemente en la enfermedad de Von Willebrand tipo 3, dado que no existe síntesis de VWF, el medicamento no es eficaz. En el tipo 2, el efecto de la desmopresina es de valor limitado, dado que incrementa la síntesis de un FVW anormal (disfuncional), por lo que no se normaliza la estructura multimérica del FVW, y el tiempo de hemorragia no se modifica o solamente se acorta parcialmente. En el tipo 2B, la desmopresina libera multímeros anormalmente hiperfuncionales que agregan las plaquetas en la circulación. Sin embargo, las respuestas son variables, por lo que se aconseja una prueba terapéutica en cada caso. En los infrecuentes casos de tipo 2N (en los que la alteración genética del FVW impide su unión al FVIII), la desmopresina incrementa los niveles del FVW (anormal), por lo que resulta ineficaz[47]. En el tratamiento de los enfermos afectados de tipo 3, y también en la mayoría de casos de tipo 2, se ha de recurrir al tratamiento sustitutivo. La desmopresina es la medicación de elección en la mayoría de casos de tipo 1, que en general responden bien, con incremento de los niveles de FVW con estructura multimérica normal y corrección del tiempo de hemorragia. El aumento de estos parámetros es de corta duración (6-8 horas o incluso menos), volviendo rápidamente a los niveles previos a la infusión del fármaco.

La respuesta a la administración de DDAVP en dosis repetidas cada 12 horas, aunque parece depender de una variabilidad individual, ocasiona una progresiva disminución del incremento del FVIII y del FVW[48]. La vía más utilizada es la intravenosa, pero también puede administrarse por vía subcutánea y nasal. La respuesta inducida por vía intravenosa y subcutánea es similar en intensidad, aunque por este segundo proceder es algo más lenta y mantenida[49]. Por el contrario, por inhalación, la respuesta es más inconstante que la que se obtiene mediante las otras vías de administración. La dosificación que se emplea, aproximadamente, es de 0,3 a 0,4 µg/kg de peso, dosis que suele ser bien tolerada y que sólo ocasionalmente produce un ligero aumento de la frecuencia del pulso y un moderado enrojecimiento facial, sin apreciarse cambios significativos en los valores de la tensión arterial. En muy raras ocasiones, este tratamiento, debido a sus propiedades antidiuréticas, ha causado retención de líquidos, con la consiguiente sobrecarga circulatoria; este efecto se debe tener en cuenta en el tratamiento de niños de corta edad y de cardiópatas adultos.

Terapéutica sustitutiva

Los crioprecipitados (concentrados plasmáticos de muy baja pureza) han sido hasta hace unos años los productos de elección, porque contienen buenos niveles de FVIII y también de FVW con estructura multimérica normal, y han mostrado en general un buen efecto hemostático. El mayor inconveniente que tienen es la falta de inactivación del VIH y de las hepatitis B y C; por ello, en algunos países están proscritos. Otros inconvenientes de los crioprecipitados, además de la ausencia de inactivación vírica, son el volumen elevado, el contenido de fibrinógeno alto con el consecuente riesgo de hiperfibrinogenemia, y los títulos elevados de las aglutininas antiA y antiB.

Actualmente, existe el recurso de utilizar los concentrados denominados de FVIII de pureza intermedia (FVIII 1-5 UI/mg de proteína total), que han mostrado efectividad aceptable, dado que poseen buena cantidad de FVW, aunque en la mayoría de ellos faltan los multímeros de más alto peso molecular[50,51]. Estos multímeros, que tienen mayor capacidad funcional, disminuyen por proteólisis durante el proceso de fraccionamiento. Los concentrados de pureza intermedia se obtienen a partir de crioprecipitados mediante absorción con hidróxido de aluminio y sucesivas precipitaciones con alcohol a bajas temperaturas, polietilenglicol o sales minerales. En ellos, la inactivación vírica se consigue mediante pasteurización o tratamiento con un solvente orgánico y un detergente: tri-(n-butil) fosfato-colato o calentamiento del producto terminal a más de 72 °C durante más de 72 horas. Tras la infusión de concentrados de pureza intermedia, se produce un aumento instantáneo de los niveles circulantes de FVW (Von Willebrand antigénico y cofactor de la ristocetina), si bien los niveles de FVIII son desproporcionadamente más elevados y más mantenidos que los del FVW, pudiendo llegar a persistir hasta incluso 48 horas después de la infusión. El FVW desciende a las 12 horas por debajo del 50% de los valores obtenidos tras la infusión. La experiencia ha demostrado que el FVIII de pureza intermedia denominado Hemate P[52] y el 8Y del Servicio Nacional de Salud Británico[53,54], producen un buen efecto hemostático. El primero

contiene multímeros del FVW de alto peso molecular en proporción aceptable, y corrige la adhesión *in vitro* de las plaquetas sobre el subendotelio vascular[55].

Los concentrados de FVIII altamente purificados (FVIII 50-250 UI/mg) y muy altamente purificados (FVIII > 2.000 UI/mg), obtenidos estos últimos por cromatografía de inmunoafinidad, no son, en principio, de elección en el tratamiento de la enfermedad de Von Willebrand, ya que su contenido en FVW es irrelevante. Actualmente, un concentrado de FVW altamente purificado con escasa cantidad de FVIII se ha mostrado eficaz, aunque la experiencia todavía es limitada[56,57]. Aunque no está actualmente disponible, próximamente puede que sea utilizable el FVW recombinante[58].

El tratamiento con concentrados plasmáticos se requiere ineludiblemente en los enfermos de tipo 3, en los cuales el FVW es inexistente en todas las localizaciones: plasma, subendotelio y plaquetas. También está indicado en algunas formas tipo 1 (con bajos niveles de FVW plaquetario) y en los pacientes de tipo 2, en los cuales el FVW plasmático es funcionalmente anormal. En estos casos, especialmente en los de tipo 3, los estrógenos y la desmopresina son ineficaces.

En un porcentaje muy importante de enfermos de tipo 3 y de tipo 1 con déficit de FVW plaquetario el tratamiento con concentrados plasmáticos, aunque consiga que los niveles y la estructura multimérica del FVW en plasma alcancen la normalidad, el tiempo de hemorragia persiste prolongado y la hemorragia no cesa[59-61]. Se ha demostrado que esto es debido a la ausencia del FVW plaquetario[60,61]. En consecuencia, ante una situación de hemorragia grave resistente al tratamiento con concentrados plasmáticos, está indicado aplicar terapéutica adicional con concentrados de plaquetas[61-63]. La dosis de plaquetas normales que se deben transfundir son las utilizadas en los pacientes afectados de trombocitopenia central ($4\text{-}5 \times 10^{11}$). La transfusión de plaquetas debe administrarse cuando los valores del FVW hayan alcanzado 15 U/dL[63]. En enfermos de tipo 3, resistentes al tratamiento con concentrados plasmáticos, se ha descrito que la administración adicional de desmopresina ha corregido, aunque no normalizado, el tiempo de hemorragia[64]. Este proceder podría ser un recurso útil, aunque no se ha explicado el mecanismo de acción de la desmopresina en esta situación.

Ante un grave cuadro hemorrágico espontáneo o aparentemente espontáneo, procede normalizar con concentrados plasmáticos los niveles de FVW y FVIII en plasma. Generalmente, esto se obtiene basándose en que, de modo similar a lo que ocurre en la hemofilia, 1 U/kg de FVW aumenta el nivel en plasma en 2 U/dL. En ocasiones, una vez que la hemorragia cesa, no es necesario repetir el tratamiento, siempre que su localización no afecte a órganos vitales, en cuyo caso ha de perdurar varios días.

En cirugía mayor es conveniente seguir el mismo criterio, desde el momento de la intervención, teniendo en cuenta que la aparición de hemorragias generalmente se produce en el postoperatorio no inmediato. Procede corregir, previamente a la intervención, el nivel del FVW en plasma (80-100 U/dL) y mantener el nivel a 40-50 U/dL durante los 5 primeros días del postoperatorio.

Durante el embarazo, la mayoría de pacientes no tienen problemas hemorrágicos, excepto los afectados de la enfermedad tipo 3. Durante el puerperio, en las enfermas afectadas del tipo 3, del tipo 2 y del tipo 1 con niveles bajos de FVW plaquetario, el tratamiento con concentrados plasmáticos es necesario con frecuencia. En las pacientes de tipo 2B, la liberación de FVW anormal durante las fases finales del embarazo y durante el parto, puede ocasionar empeoramiento de la trombocitopenia por lo que es adecuado disponer de concentrados de FVW y plaquetas, para transfundir en caso de que aparezcan hemorragias.

De lo expuesto se deduce que la estrategia terapéutica depende del tipo de enfermedad de Von Willebrand y de la mayor o menor gravedad de la hemorragia existente o que se deba prevenir.

Aloanticuerpos frente al factor Von Willebrand[39,65]. Aparecen como un efecto secundario del tratamiento sustitutivo en una proporción de enfermos de tipo 3, de modo similar a como ocurre en la hemofilia. Estos anticuerpos, caracterizados como IgG policlonales, se enfrentan al antígeno del FVW (FVW:Ag) de plasma normal y de hemofilia A, inhiben fuertemente la actividad cofactor de la ristocetina, y tienen muy poca o ninguna actividad frente al FVIII.

Recientemente, se han hallado deleciones completas o parciales del gen que codifica la síntesis del FVW en enfermos de tipo 3, con presencia de anticuerpos anti FVW, lo cual ha sugerido que la deleción predispone a su aparición.

En estos enfermos, el efecto hemostático del tratamiento sustitutivo es menos satisfactorio que en los que no presentan inhibidor. La aparición de complicaciones del tipo dolor lumbar y abdominal e hipertensión se ha observado en algún caso como consecuencia del tratamiento con concentrados plasmáticos, manifestaciones que responden bien al tratamiento con corticoides. En ocasiones, la corrección del FVIII es suficiente para que cesen las hemorragias de partes blandas, aunque no se normalice el tiempo de hemorragia. En las hemorragias graves que no responden a la infusión de concentrados plasmáticos, puede ser necesario tratar al paciente con intercambio plasmático, con inmunoabsorción extracorpórea o con infusiones de gammaglobulina o mediante infusión de factor VII recombinante.

OTROS DÉFICIT

En este apartado se tratará de los déficit de factores de coagulación que se presentan con mucha menor frecuencia y se transmiten de forma autosómica recesiva. No es fácil conocer la incidencia real de estos trastornos, ya que en general sólo se comunican los casos importantes o peculiares, pero existe un amplio grupo de individuos, especialmente en poblaciones en las que abundan los matrimonios consanguíneos, heterocigotos asintomáticos o con muy poca manifestación hemorrágica, que no son conocidos, donde el número de casos aumenta de forma significativa.

Las manifestaciones hemorrágicas más importantes aparecen en los homocigotos, pero también existe un amplio grupo de individuos heterocigotos asintomáticos, al que se debe tener muy en cuenta ante procedimientos generalmente poco traumáticos que, asociados con estos déficit, pueden implicar un riesgo mayor (anestesia epidural, utilización de fórceps en el parto y otros). En aquellas circunstancias, como las intervenciones quirúrgicas, en las que el riesgo hemorrágico es elevado debe hacerse una profilaxis adecuada para prevenirlos. Entre las mujeres que presentan menstruaciones consideradas abundantes y prolongadas y que provocan anemias

ferropénicas crónicas, los déficit sobre todo de XI, VII y X no son infrecuentes. Su conocimiento puede evitar estos inconvenientes con un tratamiento sencillo y adecuado.

El diagnóstico se sospecha ante una historia familiar de diátesis hemorrágica, y se orienta mediante la realización de las pruebas de hemostasia descritas en la tabla 35.1, que son sencillas, rápidas y accesibles a cualquier laboratorio, y se confirma mediante la cuantificación de los factores procoagulantes.

Debido a la baja prevalencia y, por tanto, a la menor experiencia, las recomendaciones terapéuticas establecidas son de grado C, con un nivel de evidencia IV.

Para su tratamiento, no se dispone en todos los casos de concentrado del factor deficitario, como sería deseable, y hay que recurrir a concentrados del complejo protrombínico (CCP), crioprecipitados o plasma fresco congelado (PFC). De acuerdo con la legislación vigente en nuestro país estos dos últimos deberán haber sido sometidos a métodos de inactivación viral (cuarentena o fotoinactivación con azul de metileno), aunque esto no elimina totalmente el riesgo de transmisión viral. La actividad de los factores de coagulación en el PFC se mantiene generalmente por encima del 80%, salvo el fibrinógeno que puede descender al 65-80%. Las dosis que se recomiendan siempre deben ajustarse individualmente de acuerdo con las determinaciones realizadas *in vitro*. Es importante ser cautos al utilizar los concentrados de factores VII, XI, fibrinógeno y CCP, debido al riesgo trombogénico asociado con su uso en pacientes con factores predisponentes (cirugía, enfermedad cardiovascular, etc.) y, sobre todo, cuando se utiliza durante períodos prolongados y en dosis elevadas[66-72].

Alteraciones del fibrinógeno

Al estudiar las anomalías del fibrinógeno pueden distinguirse dos fenotipos: afibrinogenemia y disfibrinogenemia.

La afibrinogenemia es una alteración muy infrecuente (tabla 35.2) que aparece en ambos sexos, sin predilección racial. Se transmite de forma autosómica recesiva, y son los homocigotos los que en general presentan clínica hemorrágica. En más de la mitad de los casos descritos hay una historia de consanguinidad en los ascendientes.

Los niveles plasmáticos de fibrinógeno son indetectables o muy bajos, medidos tanto por técnicas coagulométricas como inmunológicas, así como en las plaquetas (tabla 35.1). Los análisis genéticos realizados no han mostrado ninguna pérdida ni cambios estructurales de los genes que codifican las cadenas α, β y γ del fibrinógeno, a pesar de la ausencia total de éste en el plasma.

Las manifestaciones hemorrágicas en los casos más graves se manifiestan desde el nacimiento, por el cordón umbilical, poscircuncisión y cerebrales, como más características. No son infrecuentes en las mucosas (epistaxis, menorragia) quizá debido a que el fibrinógeno plaquetario también es deficiente. Se ha advertido una mayor incidencia de rotura esplénica espontánea y abortos de repetición en las mujeres que lo padecen. Además de las manifestaciones hemorrágicas, también se han notificado episodios de trombosis.

En la hipofibrinogenemia, el valor de la proteína es reducido. Se trata de una forma heterocigota del mismo trastorno que, a veces, se asocia con disfibrinogenemia y no suele ir acompañada de clínica hemorrágica, a no ser que los niveles sean inferiores a 50 mg/dL. Las pruebas de laboratorio que orientan el diagnóstico siempre deben completarse con métodos específicos de medición del fibrinógeno, tanto coagulativos como inmunológicos.

Desde que en 1964 se describió el primer caso de disfibrinogenemia con alteración funcional del fibrinógeno hasta ahora,

TABLA 35.2

Incidencia de los déficit infrecuentes de factores de coagulación

Factor deficitario	Defecto genético: cromosoma	Incidencia estimada
Fibrinógeno	4	1:1 millón
II	11	1:2 »
V	1	1:1 »
VII	13	1:0,5 »
X	13	1:1 »
XI		1:0,1 »
XIII	Subunidad A: 6 Subunidad B: 1	1:1,5 »

TABLA 35.1

Diagnóstico de los déficit infrecuentes de factores de coagulación

Factor deficitario	Pruebas diagnósticas		Nivel plasmático hemostático (U/dL)	Manifestaciones hemorrágicas (U/dL)
	Anormal	Normal		
Fg	TP, TTP, TT, FD	TTP al $^1/_2$ con PC	> 50*	< 5*
II	TP, TTP, FD	TTP al $^1/_2$ con PC	> 20	< 10
V	TP, TTP, FD	TTP al $^1/_2$ con PC	> 15	< 10
VII	TP, FD	TTP al $^1/_2$ con PC	> 15	< 10
X	TP, TTP, TR, FD	TTP al $^1/_2$ con PC	> 15	< 10
XI	TTP, FD	TTP al $^1/_2$ con PC	> 20	< 10
XIII	Test solubilidad coágulo, FD	TTP al $^1/_2$ con PC	5-10	< 2

FD: factor deficitario; Fg: fibrinógeno; PC: plasma control; TP: tiempo de protrombina; TR: tiempo de reptilase; TT: tiempo de trombina; TTP: tiempo parcial de tromboplastina activada; *mg/dL.

se han comunicado numerosos casos. Generalmente, se hereda de forma autosómica dominante, aunque algunos individuos tienen una herencia recesiva. La mayoría son heterocigotos y asintomáticos o con manifestaciones hemorrágicas leves. Hasta el 17% pueden presentar complicaciones trombóticas.

Las pruebas de laboratorio que orientan el diagnóstico muestran niveles bajos de fibrinógeno, medidos mediante técnicas coagulométricas, que contrastan con niveles normales obtenidos por métodos inmunológicos. Existen diferentes mutaciones que alteran la liberación de los fibrinopéptidos de las cadenas Aα y Bβ del fibrinógeno, la tasa de polimerización de los monómeros de fibrina y los lugares de entrecruzamiento de la fibrina. Los PDF que aparecen en distintas enfermedades pueden interferir con la función del fibrinógeno normal y simular una disfibrinogenemia. Algunos pacientes con hepatopatías, hematomas, sida y procesos linfoproliferativos presentan una forma adquirida de disfibrinogenemia[73,74].

Para el tratamiento del déficit de fibrinógeno se utiliza el concentrado plasmático de fibrinógeno en dosis iniciales de 50 mg/kg, seguida de dosis de mantenimiento de 20 a 30 mg/kg cada 48 horas. Este producto no debe asociarse con fármacos antifibrinolíticos, debido a su potencial trombogénico. Un tratamiento alternativo es la infusión de crioprecipitados en dosis de 1 unidad/10 kg/48 h (tabla 35.3). Para tratar de evitar los abortos, algunos autores recomiendan realizar profilaxis durante el embarazo, manteniendo los niveles de fibrinógeno por encima de 60 mg/dL.

Déficit de factor II

Probablemente, es el déficit más raro de este grupo. Su herencia es autosómica recesiva. El gen del factor II se encuentra en el cromosoma 11, y se han descrito diferentes mutaciones (tabla 35.2). Se distinguen dos fenotipos: hipoprotrombinemia, caracterizada por niveles concomitantemente bajos tanto en los valores antigénicos como en la actividad funcional, y disprotrombinemia, caracterizada por la síntesis normal de una proteína disfuncionante (baja actividad coagulativa con niveles antigénicos normales). El déficit completo del factor II parece ser incompatible con la vida.

Las manifestaciones hemorrágicas pueden ser graves en los pacientes homocigotos, sobre todo ante procesos quirúrgicos, mientras que los heterocigotos suelen ser asintomáticos o padecer hemorragias menores en mucosas (epistaxis, menorragias) y sólo desarrollar episodios hemorrágicos en procedimientos traumáticos; en el caso de las disprotrombinemias éstas son variables. En general, hay una débil correlación entre los niveles funcionales y las características clínicas de la hemorragia.

Para su diagnóstico, es fundamental el estudio de la actividad funcional mediante la dosificación del factor deficitario por técnicas coagulativas, y las pruebas inmunológicas sirven de ayuda (tabla 35.1). Al realizar el diagnóstico diferencial con otras causas, la ausencia de antecedentes familiares debe hacer investigar posibles déficit adquiridos como consecuencia del tratamiento con diversos fármacos, como cefalosporinas de tercera generación. También se ha comunicado la aparición de autoanticuerpos en pacientes con alteraciones inmunológicas (síndrome antifosfolipídico y otras) y tras procedimientos quirúrgicos en los que se ha utilizado trombina tópica bovina o preparados de goma de fibrina.

Para su tratamiento, se utilizan los CCP en dosis inicial de 20-30 UI/kg, seguida de dosis de mantenimiento de 5 a 10 UI/kg cada 24 horas. Se debe ser cuidadoso si se exceden estas dosis, por el riesgo de inducir complicaciones trombóticas. Una opción alternativa es la utilización del PFC en dosis iniciales de 10-20 mL/kg, seguida de 5-10 mL/kg cada 24 horas (tabla 35.3)[75].

Déficit de factor V

Es una alteración también muy infrecuente (tabla 35.2) que se hereda de forma autosómica recesiva en la que muchos individuos que la padecen tienen una historia de consanguinidad en sus ascendientes. El gen del factor V se halla en el cromosoma 1, y se conoce que existen diferentes variantes genéticas. Se caracteriza por el descenso o ausencia de la actividad del factor V en el plasma y en las plaquetas. La mayoría de los casos presenta niveles bajos tanto en los valores antigénicos como en la actividad funcional; también hay casos con niveles antigénicos normales indicando la presencia de una proteína disfuncionante.

Casi todas las hemorragias graves se producen en homocigotos con niveles inferiores al 1%, y pueden presentarse desde el nacimiento por el cordón umbilical; no son raras las hemorragias moderadas, sobre todo en mucosas (epistaxis, menorragias, cavidad oral), con niveles entre el 1 y el 10%. Existe buena correlación entre la diátesis hemorrágica, el nivel de factor V y la prolongación del tiempo de hemorragia, pues parece que la tendencia hemorrágica se correlaciona mejor con el nivel plaquetario del factor V que con el plasmático. Se han publicado varios casos de déficit congénitos de factor V que han presentado trombosis.

La dosificación del factor deficitario es fundamental para el diagnóstico (tabla 35.1).

La aparición de aloanticuerpos en pacientes con déficit congénitos es muy infrecuente; no lo son tanto los autoanti-

TABLA 35.3

Tratamiento de los déficit infrecuentes de factores de coagulación

Factor deficitario	Vida media plasmática (horas)	Tratamiento	Dosis
Fg	72	C Fg	30-50 mg/kg/48 h
		Crioprecipitado	1 U/10 kg/48 h
II	70	CCP	10-30 U/kg/24 h
		PFC	6-20 mL/kg/24 h
V	36	PFC	10-20 mL/kg/12-24 h
		C Plaquetas	
VII	3-6	C FVII	40 U/kg/6-12 h
		rFVIIa	15-30 U/kg/4-6 h
X	40	CCP	15-30 U/kg/24 h
		PFC	10-20 mL/kg/24 h
XI	48	C FXI	20-30 U/kg/24-48 h
		PFC	6-20 mL/kg/24 h
XIII	7-10	C FXIII	20-50 U/kg
		PFC	2-3 mL/kg

C: concentrado; CCP: concentrado del complejo protrombínico; Fg: fibrinógeno; PFC: plasma fresco congelado.

cuerpos detectados en el curso de infecciones (tuberculosis), neoplasias, individuos tratados con antibióticos (aminoglucósidos, penicilina) y trombina tópica bovina en cirugía (contiene factor V bovino) o idiopáticas. En estos casos, puede desaparecer de forma espontánea en semanas o meses. El factor VIIa recombinante se ha mostrado útil para prevenir o tratar hemorragias en el contexto de un inhibidor, aunque la experiencia es muy limitada[76].

En los individuos con este déficit, el plasma fresco congelado es el tratamiento disponible en dosis inicial de 15 a 20 mL/kg/12 h, seguido de dosis de mantenimiento de 6 mL × kg/12-24 h, ya que no existen concentrados de factor V. Los concentrados de plaquetas pueden añadirse al tratamiento anterior sólo en caso de no controlar suficientemente el episodio hemorrágico, debido al riesgo de inducción de anticuerpos antiplaquetarios (tabla 35.3). En las hemorragias menores, como epistaxis y sangrado tras extracciones dentales, pueden utilizarse métodos locales y tratamiento con antifibrinolíticos, como el ácido tranexámico o el ácido ε-aminocaproico.

Déficit de factor VII

Desde que en 1951 Alexander describió el primer caso, se han comunicado muchos más, y hoy día es el menos infrecuente de estos déficit (tabla 35.2). Se hereda de forma autosómica recesiva. El gen se localiza en el cromosoma 13, y se han descrito numerosas mutaciones. La mayoría de los afectados presentan niveles bajos y concomitantes entre los valores antigénicos y la actividad funcional, aunque la discordancia antigénico-funcional también se ha descrito con un descenso más acusado de esta última. No obstante, hay que tener en cuenta que la actividad funcional está muy mediada por la tromboplastina utilizada.

La predisposición hemorrágica se produce sobre todo en los homocigotos, y es muy variable; en general, es poco importante, aunque con niveles menores al 1% pueden aparecer hemorragias graves parecidas a la hemofilia, y en el nacimiento tras parto vaginal puede ocasionar hemorragias cerebrales, que es importante prevenir. Se han reseñado varios casos de trombosis, algunos asociados con tratamiento con CCP o concentrado de factor VII, pero en otros fueron espontáneos.

El diagnóstico siempre debe confirmarse con la dosificación del factor VII, para lo que se aconseja utilizar tromboplastina humana, ya que se considera que es la que mejor define la actividad funcional (tabla 35.1)[77,78].

Se han observado déficit asociados con hiperbilirrubinemia congénita (enfermedad de Gilbert), síndrome de Dubin-Johnson, síndrome de Rotor, homocistinuria y otros. Hay muy pocos casos descritos de aparición tanto de aloanticuerpos como de autoanticuerpos.

Para su tratamiento, se utilizan los concentrados plasmáticos de factor VII en dosis de 30-40 UI/kg cada 6-12 h, o el factor VIIa recombinante en dosis de 15-30 µg/kg cada 4-6 h (tabla 35.3). El PFC es un recurso terapéutico cuando no se dispone de los concentrados anteriores, en dosis inicial de 15-20 mL/kg, seguido de dosis de mantenimiento de 3-6 mL/kg cada 8-12 h.

Déficit de factor X

Su herencia es autosómica recesiva, y la incidencia estimada aumenta en las regiones en las que es más frecuente la consanguinidad. La síntesis de este factor está codificada por un gen del cromosoma 13 (tabla 35.2). Los fenotipos se caracterizan por niveles plasmáticos concomitantemente bajos, tanto en los valores antigénicos como en la actividad funcional, o niveles normales o ligeramente descendidos antigénicos que contrastan con muy baja actividad funcional. Un déficit total de este factor parece ser incompatible con la vida.

La tendencia hemorrágica es variable, y la gravedad suele ser directamente proporcional al grado del déficit. Los homocigotos con niveles muy bajos pueden presentar episodios similares a los de los hemofílicos, comenzando a manifestarse desde el nacimiento, por el cordón umbilical. Para su diagnóstico, la dosificación del factor X es fundamental (tabla 35.1). Se han comunicado déficit adquiridos asociados a infecciones respiratorias, leucemia mieloide aguda, neoplasias, amiloidosis, así como debido a la aparición de autoanticuerpos en pacientes con lepra y asociados con tratamientos antibióticos[79].

No existen concentrados de factor X. Para su tratamiento, los CCP son el producto de elección, empleados en dosis de 20-30 UI/kg seguidas de dosis de mantenimiento de 10 a 15 UI/kg cada 24 h. Es aconsejable que los niveles de factor IX alcanzados con este tratamiento no sobrepasen el 50%, debido al riesgo trombogénico del producto. El PFC es una alternativa en dosis inicial de 15-20 mL/kg, seguida de dosis de mantenimiento de 3-6 mL/kg/12 h (tabla 35.3).

Déficit de factor XI

También conocido como hemofilia C, se hereda de forma autosómica recesiva. Aunque este déficit es más prevalente en la comunidad judía asquenazi, con una frecuencia genética del 4,3%, también se observa en la población general y está considerado el cuarto más frecuente después de las hemofilias y la enfermedad de Von Willebrand (tabla 35.2). La mayoría de los alelos defectuosos del factor XI son consecuencia de un número limitado de mutaciones.

Las manifestaciones hemorrágicas tienden a ser moderadas, y las más frecuentes se producen en las mucosas; más del 50% de las mujeres que padecen este déficit presenta menorragias. La correlación entre la concentración de este factor y la tendencia a sangrar no es muy lineal, pero en general, con niveles inferiores a 10 U/dL el riesgo de padecer hemorragias tras cirugía, posparto y otras es elevado.

Ante la sospecha diagnóstica las pruebas de laboratorio (tabla 35.1) siempre deben completarse con la dosificación de otros factores de la vía intrínseca, FVW, pruebas de funcionalismo plaquetario (PFA-100) y la confirmación del déficit aislado del factor XI, ya que se han descrito alteraciones asociadas tipo enfermedad de Von Willebrand, déficit de factor VIII, factor IX y trombocitopatías que pueden potenciar el riesgo hemorrágico. Para un diagnóstico correcto, es muy importante realizar la extracción de la muestra en tubos de plástico, y realizar el procesado al poco tiempo de la extracción. En ausencia de historia familiar, también hay que investigar la presencia de inhibidores, que pueden aparecer sobre todo en pacientes con enfermedades inmunológicas.

Para su tratamiento, se utiliza el concentrado plasmático de factor XI en dosis de 20-30 UI/kg cada 24-48 h. Debido al efecto trombogénico de este producto, debe utilizarse con precaución en pacientes con riesgos sobreañadidos, como enfermedades cardiovasculares, neoplasias u otras, evitan-

do dosis mayores de 30 UI/kg y niveles plasmáticos de factor XI superiores a 50-70 UI/dL. También debe evitarse el uso concomitante de fármacos antifibrinolíticos. En pacientes con alto riesgo, se puede valorar la realización de profilaxis con HBPM. El PFC en dosis de 15-20 mL/kg, seguida de dosis de mantenimiento de 3-6 mL/kg cada 24 h es la alternativa, cuando los concentrados estén contraindicados o no estén disponibles (tabla 35.3). Pueden realizarse las extracciones dentales utilizando ácido tranexámico, sin necesidad de infundir hemoderivados, comenzando 12 horas antes y manteniéndolo durante 7 días. Tambien puede utilizarse para el control de las menorragias. En el caso de aparición de aloanticuerpos o autoanticuerpos, el factor VIIa recombinante está mostrando mejores resultados que otras alternativas[80,81].

Déficit de factor XIII

Es un trastorno muy infrecuente, que se hereda de modo autosómico recesivo, observándose con frecuencia consanguinidad entre los que lo padecen (tabla 35.2).

Se han observado dos tipos de alteraciones del factor XIII. En el primero, tanto la subunidad a como la b están inmunológicamente descendidas. En el otro tipo, sólo la subunidad a está inmunológicamente descendida, y la b es normal. La subunidad a siempre está descendida en las alteraciones del factor XIII, habiéndose descrito un solo caso de tendencia hemorrágica por déficit de subunidad b.

Las manifestaciones hemorrágicas suelen aparecer en individuos homocigotos con menos del 1%, y pueden ser muy graves. Se pueden manifestar desde el nacimiento por hemorragia del cordón umbilical, poscircuncisión y tampoco es excepcional la hemorragia intracraneal espontánea. También se ha observado una mala cicatrización de las heridas, abortos de repetición y una mayor incidencia de esterilidad en los hombres.

El diagnóstico se sospecha ante un cuadro de diátesis hemorrágica familiar, con las pruebas habituales de hemostasia normales. La solubilidad del coágulo en urea o en ácido monoacético es la prueba más fehaciente para descubrir el defecto del factor XIII (tabla 35.1). Para diferenciar los dos tipos de defecto es necesario acudir a pruebas inmunológicas[82]. Algunos pacientes han desarrollado aloanticuerpos después del tratamiento con hemoderivados, y las hemorragias en estos casos pueden ser importantes. El déficit por autoanticuerpos puede aparecer en el contexto de alteraciones inmunes, y también después de tratamientos con isoniacida, procainamida y difenilhidantoína.

Para su tratamiento, se utiliza el concentrado plasmático de factor XIII en dosis de 20-50 UI/kg. Un tratamiento alternativo es la infusión de PFC en dosis de 2-3 mL/kg (tabla 35.3). Dada la relativa frecuencia con que se producen hemorragias en el SNC en niños, y abortos de repetición en mujeres, algunos autores recomiendan el tratamiento de forma profiláctica con concentrado de factor XIII en dosis de 10-20 UI/kg o 2-3 mL/kg de PFC cada 4-6 semanas, tratando de mantener los niveles de este factor entre 1-3%. Tanto en niños como en adultos, cualquier traumatismo craneal debe ser tratado de forma intensiva, teniendo en cuenta la frecuencia de hemorragias intracraneales de aparición tardía.

Déficit combinados de varios factores de coagulación

Se ha observado una gran variedad de defectos combinados de distintos factores de coagulación (tabla 35.4). Todos ellos son raros, aunque el tipo I (factor V-VIII) y el tipo III (factores II, VII, IX y X) son los más descritos. Los otros déficit combinados son muy infrecuentes. Unos se deben a la transmisión genética de un defecto conjunto, y otros son una asociación casual de los defectos individuales.

TABLA 35.4

Factores deficitarios en los diferentes tipos de déficit congénitos combinados

Tipo	Factores deficitarios
I	V, VIII
II	VI, IX
III	II, VII, IX, X
IV	VII, VIII
V	VIII, IX, XI
VI	IX, XI
VII	VII, XII

Además de las manifestaciones hemorrágicas graves que pueden aparecer en todos estos pacientes, muchas veces desencadenadas por un traumatismo, hay un elevado porcentaje de casos que sufren diátesis hemorrágicas leves o moderadas (epistaxis, menorragias y hemorragias dentales por exodoncias), con la consiguiente repercusión negativa en la calidad de vida. En estas situaciones, hay recursos terapéuticos útiles que pueden evitar la infusión de hemoderivados, como los antifibrinolíticos, DDAVP y medidas tópicas.

El déficit tipo I se ha observado sobre todo en familias mediterráneas de origen judío sefardí. Se hereda de forma autosómica recesiva, y el gen de este déficit combinado se ha encontrado en el brazo largo del cromosoma 18. Los niveles de los valores antigénicos y la actividad funcional de ambos factores suelen estar entre el 5 y el 15%. Las hemorragias son moderadas y, generalmente, se producen después de cirugía o traumatismos. Para su tratamiento o como forma profiláctica ante intervenciones quirúrgicas, se utiliza PFC en dosis de 10-15 mL/kg, y concentrados de factor VIII. En algún caso, se ha utilizado DDAVP con buenos resultados. El tipo III es un déficit combinado de los factores II, VII, IX y X y de la proteína C, que se transmite de forma autosómica recesiva. Es muy raro, y las manifestaciones hemorrágicas pueden ser graves. Es muy importante diferenciar estos pacientes, si no tienen historia familiar o personal, de aquellos que pueden sufrir una sobredosificación por dicumarínicos[83].

Para su tratamiento se utilizan los CCP en dosis de 20 UI × kg procurando no sobrepasar estas dosis, por el riesgo de aparición de episodios trombóticos. El PFC también puede utilizarse en dosis de 15 mL/kg. En ocasiones, ha sido efectiva la administración de vitamina K en dosis altas.

Los defectos de la vía de activación por contacto donde actúan los factores XII (factor Hageman), cininógeno de alto

peso molecular y precalicreína producen alteraciones de laboratorio con importante alargamiento del TTPa que, muchas veces, se pone de manifiesto de forma fortuita, pero no provocan hemorragias y no requieren preparación ante intervenciones quirúrgicas.

En el caso del factor XII, los individuos homocigotos tienen niveles generalmente indetectables, mientras que los heterocigotos presentan niveles del 20-60% del normal. Es importante conocer y diagnosticar estos déficit para evitar tratar a los portadores con hemoderivados de forma inadecuada. La aparición de inhibidores es muy rara, y se ha descrito en pacientes con trastornos autoinmunes y en pacientes tratados con procainamida o clorpromacina.

Los defectos del sistema fibrinolítico, déficit de α_2-antiplasmina o incremento del activador tisular del plasminógeno (t-PA) o disminución de su inhibidor (PAI-1) también pueden causar hemorragias repetidas. La sospecha diagnóstica se hace ante parámetros de hemostasia globales normales (TP, TTP y plaquetas) y una concentración de fibrinógeno desproporcionadamente baja; en general, tiene títulos elevados de PDF, con concentración normal de dímero D. El tratamiento se realiza con PFC y, en ocasiones, con fármacos antifibrinolíticos[84].

BIBLIOGRAFÍA

1. The United States pharmacopeial convention, Inc. Hemophilia Management. Transfusion Med Rev 1998; 12:128-140.
2. Antonarakis SE, Rissiter JP, Young M, et al. Factor VIII inversions in severe hemophilia A: Results of an international consortium study. Blood 1995; 86:2206.
3. Amano K, Sarkar R, Pemberton S, et al. The molecular basis for cross-reacting material-positive hemophilia A due to missense mutations within the A2 domain of factor VIII. Blood 1998; 91:538.
4. Crooley M, Ludwing M, Stowell KM. Recovery from hemophilia B Leyden: an androgen-responsive element in the factor IX promoter. Science 1992; 257:377.
5. Diuguid DL, Rabiet MJ, Furie BC, et al. Molecular basis of hemophilia B: a defective enzyme due to an unprocessed propeptide is caused by a point mutation in the factor IX precursor. Proc Natl Acad Sci USA 1986; 83:5803.
6. Bentley AK, Rees DJ, Rizza C, Browniee GG. Defective propeptide processing of blood clotting factor IX caused by mutation of arginine to glutamine at position –4. Cell 1986; 45:343.
7. Noyes CM, Griffith MJ, Roberts HR, Lundblad RL. Identification in the molecular defect in factor IX Chapel Hill: Substitution of histidine for arginine at position 145. Proc Natl Acad Sci USA 1983; 80:4200.
8. Geddes VA, Le Bonniec BF, Louie GV, et al. A moderate form of hemophilia B is caused by a novel mutation in the protease domain of factor IX Vancouver. J Biol Chem 1989; 264:4689.
9. Taylor S, Liddell MB, Peake IR, et al. A mutation adjacent to the beta cleavage site of factor IX (valine 182 to leucine) results in mild hemophilia Bm. Br J Haematol 1990; 75:217.
10. Hamaguchi N, Roberts H, Stafford DW. Mutations in the catalytic domain of factor IX are related to the subclass hemophilia Bm. Biochemistry 1993; 32:6324.
11. Barrow EM, Graham JB. Blood coagulation factor VIII (antihemophilic factor): with commentes on Von Willebrand´s disease and Christmas disease. Physiological Rev 1974; 54:23.
12. Peake IR, Lillicrp DP, Boulyjenkov V, et al. Hemophilia: strategies for carrier detectin and prenatal diagnosis. Bull World Health Organ 1993; 71:429.
13. Kernahli S, Goldman E, McCraw A, et al. Value of DNA analysis with multiple DNA probes for the detection of hemophilia A carriers. Pediatr Hematol Oncol 1994; 11:55.
14. Mibashan RS, Rodeck CH, Thumpston JK, et al. Plasma assay of fetal factor VIII C and IX for prenatal diagnosis of hemophilia. Lancet 1979; 1:1309.
15. Brühn HD, Conard J, Mannucci PM, Monteagudo J, Pelzer H, Reverter JC, et al. Multicentric evaluation of a new assay for prothrombin fragment 1+2 determination. Thromb Haemost 1992; 68:413-417.
16. Lusher JM, Hillman-Wiseman C, Hurst D. In vivo recovery with products of very high purity: assay discrepancies. Haemophilia 1998; 4:641-645.
17. Lee C. Recombinant clotting factor in the treatment of hemophilia. Thromb Haemost 1999; 82:516-524.
18. Nilsson MI, Berntorp E, Zetterwall O. Induction of immune tolerance in patients with hemophilia and antibodies to factor VIII by combined treatment with intravenous IgG, cyclophosphamide and factor VIII. N Engl J Med 1988; 328:947-950.
19. Lusher JM, Ingerslev J, Roberts H, Hedner U. Clinical experience with recombinant factor VIIa. Blood Coag Fibrinol 1998; 9:119-128.
20. Mariani G, Ghirardini A, Bellocco R. Immune tolerance in hemophilia. Principal results from the International Registry. Thromb Haemost 1994; 72:155-158.
21. Berntorp E, Boulyjenkov V, Brettler D, Chandy M, Jones P, Lee C, et al. Modern treatment of haemophilia. Bull WHO 1995;73: 691-701.
22. Kaufman RJ, Pipe SW. Can we improve on nature? «Supermolecules» of factor VIII. Haemophilia 1998; 4:370-379.
23. Rodeghiero F, Castaman G, Dini E. Epidemiological investigation of the prevalence of Von Willebrand disease. Blood 1987; 69:454-459.
24. Mancuso DJ, Tuley EA, Westfield LA, et al. Human Von Willebrand factor gene and pseudogene: structural analysis and differentation by polymerase chain reaction. Biochemistry 1991; 30:253.
25. Sadler JE. A revised classification of Von Willebrand disease. Thromb Haemostas 1994; 71:520.
26. Eikenboom JC, Matsushita T, Reitsma PH, et al. Dominant type 1 Von Willebrand disease caused by mutated cysteine residues in the D3 domain of the Von Willebrand factor. Blood 1996; 88:2433.
27. Castaman G, Eikenboom JC, Missiaglia E, Rodeghiero F. Autosomal dominant type 1 Von Willebrand disease due to G3639t mutation (c1130F) in exon 26 of Von Willebrand factor gene:description of five italian families and evidence for a founder effect. Br J Haematol 2000; 108:876.
28. Eikenboom JC, Reitsma PH, Peerlinck KM, Briet E. Recessive inheritance of Von Willebrand disease type 1. Lancet, 1993; 341:982.
29. Eikenboom JC, Castama G, Vos HL, Bertina RM, Rodeghiero, K. Characterization of the genetic defects in recessive type 1 and type 3 Von Willebrand disease patients of Italian origin. Thromb Haemost 1998; 79:709.
30. Nichols WC, Ginsburg D. Von Willebrand disease. Medicine (Baltimore) 1997; 76:1.
31. Meyer D, Fressinaud E, Hilbert L, Ribba AS, Lavergne JM, Mazurier C. Type 2 Von Willebrand disease causing defective Von Willebrand factor –dependant platelet function. Best Pract Res Clin Haematol 2001; 14:349.
32. Schneppenheim R, Federici AB, Budde U, et al. Von Willebrand disease type 2M «Vincenza» in Italian and german patients: identification of the first candidate mutation (G3864A;R205H) in 8 families. Thromb Haemost 2000; 83:136.
33. Castaman G, Missiaglia E, Federici AB, Schnppenheim R, Rodeghiero F. An additional candidate mutation (G2470A;M740I) in the original families with Von Willebrand disease type 2M Vincenza and the G3864A (R1205H) mutation. Thromb Haemost 2000; 84:350.
34. Savage B, Saldívar E, Ruggeri ZM. Initiation of platelet adhesion on to fibrinogen or translocation on Von Willebrand factor. Cell 1996; 84:289-297.
35. Ruggeri ZM. Mechanisms initiating platelet thrombus formation. Thromb Haemost 1997; 78:611-616.

CAPÍTULO 36

Hipocoagulabilidades adquiridas. Síndrome de la coagulación intravascular diseminada. Deficiencias complejas de la hemostasia

F. Martínez Brotons y P. Domènech

ÍNDICE

Cuadros clínicos con síntesis anómala de los factores vitamina K dependientes
Enfermedad hemorrágica del recién nacido
Otras situaciones de carencia de vitamina K
Alteraciones de la absorción de la vitamina K
Antagonistas de la vitamina K
Coagulopatías de consumo
Coagulación intravascular diseminada (CID)
Patogenia
Manifestaciones clínicas
Situaciones clínicas que pueden asociarse con CID
Diagnóstico
Tratamiento
Coagulopatías de consumo localizadas
Alteraciones inmunológicas de la coagulación
Inhibidores adquiridos de la coagulación
Inhibidores del factor VIII de aparición espontánea
Otros inhibidores espontáneos de los factores de coagulación
Alteraciones hemostáticas asociadas con paraproteinemias
Deficiencias complejas de la hemostasia
Alteraciones hemostáticas en las enfermedades hepáticas
Alteraciones hemostáticas en la cirrosis hepática
Complicaciones hemorrágicas en las enfermedades hepáticas
Problemas hemostáticos en el paciente quirúrgico
Alteraciones de la hemostasia en procedimientos quirúrgicos especiales
Cirugía cardíaca con circulación extracorpórea (CEC)
Trasplante hepático
Bibliografía

Las alteraciones adquiridas de la coagulación pueden estar causadas por la disminución en la síntesis de factores de la coagulación, como índice de una síntesis proteica reducida, o por una síntesis anómala de dichos factores, pero también pueden deberse al consumo intravascular de los componentes de la hemostasia o su pérdida extravascular, así como a la producción de autoanticuerpos con capacidad neutralizante para alguno de los factores de la coagulación (tabla 36.1).

Los cuadros clínicos de hipocoagulabilidad adquirida pueden deberse a una sola de estas causas o a la suma de varias, dando lugar a situaciones complejas en las que, con frecuencia, está comprometida también la hemostasia primaria. En el desarrollo de este capítulo se tratará, en primer lugar, de los cuadros que obedecen a una causa principal y, posteriormente, de las alteraciones hemostáticas complejas.

CUADROS CLÍNICOS CON SÍNTESIS ANÓMALA DE LOS FACTORES VITAMINA K DEPENDIENTES

Es, probablemente, el más claro ejemplo de síntesis anómala de factores. La descripción de otras situaciones de síntesis anómala, como la del fibrinógeno en las hepatopatías y hepatomas, se realizará en los apartados correspondientes.

Las proteínas de la coagulación llamadas vitamina K (VK) dependientes incluyen los factores II (o protrombina), VII, IX y X, y las proteínas C y S, relacionadas estas últimas con la inhibición fisiológica de la coagulación. Todas ellas presentan, en la región aminoterminal de su molécula, un grupo de residuos de ácido carboxiglutámico (residuos Gla) que permiten su unión, mediante puentes de calcio iónico, a los radicales carboxilo e hidroxilo de los fosfolípidos de la membrana de la plaqueta activada o de otras células, sobre la que tiene lugar el proceso coagulativo fisiológico. La γ-carboxilación suplementaria del ácido glutámico requiere la participación de la VK en su forma activa (hidroquinona), la cual es degradada a epóxido durante el proceso. La propia célula

TABLA 36.1

Principales causas de las coagulopatías adquiridas

Mecanismo	Ejemplos
Reducción en la síntesis de factores e inhibidores de la coagulación	Hepatopatías parenquimatosas
Síntesis anómala de factores	De factores II, VII, IX y X por déficit de vitamina K Disfibrinogenemia en hepatopatías y hepatomas
Consumo intravascular de factores e inhibidores de la coagulación	Coagulación intravascular diseminada Coagulopatías de consumo localizadas
Pérdida extravascular de factores e inhibidores de la coagulación	Grandes hemorragias, traumáticas o quirúrgicas Síndrome nefrótico
Alteraciones de la coagulación de causa inmunológica*	Inhibidores específicos de los factores de coagulación en pacientes hemofílicos y no hemofílicos Paraproteinemias (mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenström)

*No se incluyen los anticuerpos antifosfolípido por no dar lugar a hipocoagulabilidad *in vivo* y no asociarse a riesgo hemorrágico sino trombótico.

TABLA 36.2

Causas de la síntesis anómala de los factores vitamina K dependientes

Mecanismo	Ejemplos
Déficit de aporte de vitamina K	Enfermedad hemorrágica del recién nacido Falta de ingesta asociada con antibióticos de amplio espectro Dietas carenciales (trastornos psíquicos)
Déficit de absorción de vitamina K	Enfermedad celíaca Colestasis intrahepática o extrahepática Tratamiento con colestiramina
Antagonistas de la vitamina K	Fármacos cumarínicos Rodenticidas cumarínicos (de primera o segunda generación) e indandiónicos Tratamiento con cefalosporinas

hepática, mediante reductasas, regenera este epóxido a su forma activa, permitiendo otro nuevo ciclo en la formación de las moléculas activas de los factores de la coagulación (v. fig. 39.3). Este continuo reciclado explica lo exiguas que son las necesidades diarias de VK (1 µg/kg al día en el adulto). Cabe distinguir la VK_1, presente especialmente en verduras y lechuga, y la VK_2, sintetizada por la flora intestinal.

En ausencia de vitamina activa se sintetizan proteínas carentes en residuos Gla y, por tanto, incapaces de participar en el proceso coagulativo, denominadas clásicamente PIVKA (precursores inducidos por la ausencia de la VK).

La causa del déficit de VK puede ser la falta de aporte (enfermedad hemorrágica del recién nacido y situaciones carenciales del adulto), la alteración de su absorción intestinal o la interferencia de sus antagonistas (tabla 36.2).

Los datos analíticos comunes a estos procesos son la prolongación del tiempo de protrombina (TP) y del tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA), y el déficit selectivo de los cuatro factores VK dependientes (II, VII, IX y X), en contraste con una actividad conservada del factor V, no dependiente en su síntesis de la VK.

Enfermedad hemorrágica del recién nacido

Se trata de un cuadro hemorrágico, conocido desde finales del siglo XIX, que se presenta entre el segundo y el quinto día de vida, especialmente en niños que reciben lactancia materna. Se caracteriza por la aparición de múltiples equimosis, hematomas, sangrado por las mucosas, especialmente por la gastrointestinal, que da lugar a melena, y ocasionalmente, hemorragia intracraneal. También es frecuente el rezumamiento hemático de la ligadura del cordón umbilical. Esta afección es debida a la falta de aporte de VK, con la consiguiente alteración en la síntesis de los factores VK dependientes. Las principales causas de la deficiencia en VK son su escaso transporte a través de la placenta, la relativa pobreza en VK de la leche materna y el escaso volumen de ella que toma el recién nacido en los primeros días, a lo que hay que sumar la falta de aporte por la flora intestinal, inexistente en los primeros días de vida. El cuadro no se presenta en caso de alimentación con preparados comerciales, muy ricos en la vitamina. A pesar de que, teóricamente, la inmadurez hepática de los recién nacidos prematuros podría potenciar su aparición, se presenta, en general, en niños nacidos a término. Existe una forma clínica tardía, que se observa después de las primeras semanas de vida, en niños con lactancia materna que presentan diarrea crónica o, con menor frecuencia, enfermedad celíaca o fibrosis quística.

El diagnóstico se establece mediante la valoración de la actividad de los factores VK dependientes y su comparación con la del factor V. También puede determinarse el nivel de la vitamina en sangre, cuyos valores normales son de 0,5 ng/mL o superiores.

La profilaxis de esta patología consiste en la administración de una dosis única de VK de 1 mg por vía intramuscular, en el momento del nacimiento. Su beneficio está demostrado por varios estudios aleatorizados, y su eficacia frente a la no administración es del 96,7% (IC 95%: 74-99,6%)[1]. La administración oral de 1 a 2 mg parece ser menos eficaz en la prevención del cuadro, y no existen estudios aleatorizados que demuestren su utilidad[2]. También se aconseja la toma por la madre de un suplemento diario de 5 mg de VK durante la lactancia[3]. En cuanto al tratamiento, en el caso de alteración específica de las pruebas de coagulación sin manifestaciones hemorrágicas se aconseja administrar de 1 a 5 mg de VK por vía subcutánea (evitar la vía i.m. por riesgo de hematoma y la oral por su eficacia más dudosa). Si existen manifestaciones hemorrágicas, se deben transfundir de 10 a 20 mL/kg de plasma fresco, según la importancia de éstas, pero cuando el sangrado ponga en peligro la vida o exista hemorragia intracraneal,

se preferirá el concentrado protrombínico en dosis mínima de 50 U/kg y, en estos casos, la dosis de VK se elevará hasta 5 a 20 mg[4].

Otras situaciones de carencia de vitamina K

No es infrecuente la carencia de VK en pacientes en situación crítica, sin ingesta alguna y tratados con antibióticos de amplio espectro o con sulfamidas, que destruyen la flora intestinal, anulando esta segunda fuente de aporte de la vitamina. Se han publicado déficit en tratamientos a largo plazo con antibióticos, especialmente si se asocian con una dieta insuficiente. Por otra parte, puede observarse en sujetos con alteraciones psíquicas o de edad muy avanzada, que viven solos y utilizan dietas inadecuadas. El alcoholismo potencia estas situaciones de déficit. Con respecto a la dieta, cabe recordar que no todos los alimentos frescos son ricos en VK[5]; así; el plátano, la naranja, la cebolla y la patata contienen menos de 1 µg/100 g, mientras que las espinacas y la lechuga superan los 100 µg/100 g (tabla 36.3).

TABLA 36.3

Contenido en vitamina K de algunos alimentos

Contenido en µg/100 g	Ejemplos
≤ 1	Plátano, naranja, patata, cebolla, carne fresca, pescado fresco, leche
1-10	Tomate, zanahoria, mantequilla, hígado, huevos, aceite de maíz
10-50	Coliflor, quesos, guisantes, judías verdes, aceite de girasol
50-100	Espárragos, aceite de oliva
> 100	Col, coles de Bruselas, bróculi, espinacas, lechuga, aceite de soja

Alteraciones de la absorción de la vitamina K

La VK es liposoluble y para su absorción precisa, además de la normal función de la mucosa intestinal, la presencia de sales biliares y de la flora intestinal, que participa en el metabolismo de dichas sales. La principal enteropatía congénita que da lugar a una alteración de la absorción de la VK es la enfermedad celíaca o esprue no tropical, que se caracteriza por la mala absorción de nutrientes, con lesiones histológicas de la mucosa intestinal, que mejoran rápidamente con la eliminación del gluten de la dieta. En adultos no tratados se observa la prolongación del tiempo de protrombina en el 20% de los casos[6]. Las manifestaciones hemorrágicas son infrecuentes, aunque han sido descritas en varias ocasiones[7], y en los niños no tratados pueden dar lugar a cuadros que semejan la hemofilia, con hemartrosis y hematomas musculares.

La colestasis intrahepática, como la existente en la cirrosis biliar primaria, o la obstrucción extrahepática de las vías biliares, dan lugar a una reducción de las sales biliares que llegan al duodeno, originando un cuadro de mala absorción que afecta a las vitaminas liposolubles, con posterior síntesis anómala de los factores VK dependientes. La corrección del defecto coagulativo requiere el aporte parenteral de VK. Habida cuenta de que la corrección de la coagulación después de la administración de VK tarda en lograrse de 8 a 12 horas, en caso de hemorragia importante o de cirugía de urgencia se utiliza la transfusión de plasma fresco (15 mL/kg, que corresponden a unas cuatro unidades transfusionales para el adulto) o concentrado protrombínico, según la importancia de la situación clínica.

Aunque poco frecuente, la administración prolongada de colestiramina también puede inducir una reducción de la absorción de vitaminas liposolubles, incluida la VK, y puede originar complicaciones hemorrágicas[8].

Antagonistas de la vitamina K

Los principales antagonistas de la VK son los utilizados como fármacos anticoagulantes: los cumarínicos, tratados detalladamente en el Capítulo 38, y las indandionas, no registradas en nuestro país y de escasa utilización por su mayor toxicidad. Los cumarínicos, previamente a su uso terapéutico, fueron introducidos como rodenticidas, y siguen utilizándose como tales en la actualidad. En España, de los 11 principios activos registrados para este fin, 9 son anticoagulantes, 7 de ellos cumarínicos y 2 indandiónicos; ninguno de ellos está autorizado para uso domiciliario. Aunque el más común es la warfarina, los cumarínicos de segunda generación, también llamados superwarfarinas (brodifacum, difenacum), son los de mayor relevancia en caso de intoxicación, debido a que su efecto anticoagulante es muy prolongado y que en algunos casos ha superado los 50 días después de una dosis única pero importante. La gravedad de la intoxicación depende de la dosis. Ésta suele ser pequeña en las intoxicaciones accidentales, especialmente frecuentes en los niños, que no suelen requerir medidas terapéuticas, incluso cuando se trata de cumarínicos de segunda generación[9]. Por el contrario, en las intoxicaciones voluntarias con intención lítica suelen utilizarse grandes dosis, y está indicada la descontaminación gastrointestinal (lavado gástrico, carbón activado) y la administración de dosis elevadas de VK, evitando la vía i.m. cuando el efecto anticoagulante ya se ha desarrollado. En la intoxicación por altas dosis de cumarínicos de segunda generación pueden ser necesarias dosis de VK de 7 mg/kg al día durante 1 a 2 meses. En caso de hemorragia importante se transfunde plasma fresco o concentrado protrombínico.

Menos conocido es el efecto antagonista de las cefalosporinas que contienen un grupo *N*-metiltiotetrazol, el cual puede reducir la γ-carboxilación hepática de los factores VK dependientes al inhibir el reciclado del epóxido de la VK, con la consiguiente hipocoagulabilidad. Se ha sugerido la administración profiláctica de VK en estos tratamientos pero, en general, no se considera necesaria para la mayoría de los pacientes.

COAGULOPATÍAS DE CONSUMO

Pueden definirse como la activación de la coagulación, sin una finalidad hemostática, que conduce al depósito intravascular de fibrina y a la depleción del sistema hemostático. Dentro de este marco, se incluyen procesos diversos en cuanto a su extensión, que puede ser generalizada (coagula-

ción intravascular diseminada) o localizada (grandes hemangiomas, aneurisma aórtico), a su patogenia, a las enfermedades asociadas o a sus consecuencias clínicas.

Coagulación intravascular diseminada (CID)

La definición del correspondiente subcomité de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia es la siguiente: «La CID es un síndrome adquirido caracterizado por la activación intravascular de la coagulación, con pérdida de la localización y asociada a diversas causas. Puede ser originada por una lesión en la microcirculación, y también causarla, la cual, si es suficientemente grave, puede dar lugar a disfunción orgánica»[10].

Las consecuencias de la activación generalizada de la coagulación son, por una parte, la depleción de las proteínas de la coagulación y, también, de las plaquetas, lo que induce complicaciones hemorrágicas, y, por otra parte, el depósito de fibrina en los vasos pequeños y medianos, lo cual conduce a su progresiva obstrucción trombótica, pudiendo comprometer el aporte de sangre a diversos órganos, contribuyendo, junto con las alteraciones hemodinámicas y metabólicas propias del proceso patológico causante del cuadro, a su insuficiencia funcional (fallo orgánico). También puede ser causa de las necrosis cutáneas y de la gangrena distal que se observan en casos graves de sepsis meningocócica (fig. 36.1).

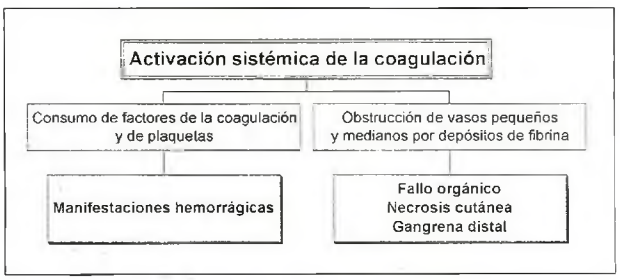


Figura 36.1. Consecuencias clínicas de las formas de coagulación intravascular diseminada.

Patogenia

En la mayor parte de casos, la patogenia de la CID debe ser considerada dentro del marco de las respuestas inflamatorias sistémicas, y en ella desempeñan un papel principal determinadas citocinas, especialmente la interleucina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α). Aunque la formación de la trombina que da lugar al cuadro de consumo puede ser debida, al menos parcialmente, a una directa liberación de sustancias procoagulantes a partir de los tejidos, como ocurriría en los traumatismos con afectación encefálica, en algunos tipos de cáncer y en complicaciones obstétricas, la causa principal de su formación, en la mayoría de casos, y especialmente en la sepsis, es la síntesis y expresión del factor tisular (TF) por parte de los monocitos y, probablemente, de las células endoteliales, inducida principalmente por la IL-6[11]. La activación de la coagulación, con formación de depósitos de fibrina intravasculares, está favorecida por la reducción de la actividad de sus inhibidores fisiológicos. La de la antitrombina es secundaria a su consumo en la neutralización de factores activados, a lo que se añade su degradación por la elastasa liberada por los neutrófilos activados, y la reducción de su síntesis en caso de afectación funcional hepática. Esta última causa también es aplicable a la disminución de proteína C activada (PCA), junto con la reducción, mediada por citocinas, de la actividad de la trombomodulina endotelial (necesaria para su activación), y la disminución de la fracción libre de su cofactor, la proteína S. Por último, si bien existe una respuesta inicial de activación fibrinolítica ante el depósito de fibrina, con liberación del activador tisular del plasminógeno (t-PA), pronto es superada por una supresión de la actividad del sistema fibrinolítico, secundaria a un importante incremento del nivel plasmático del inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1). Estos cambios en la actividad fibrinolítica están mediados especialmente por el TNF-α, de acuerdo con varios estudios en modelos animales[12].

La hiperfibrinólisis como complicación clínica está, en general, asociada con cuadros de CID más o menos relevantes. Dejando aparte la fibrinólisis terapéutica, no es probable que existan cuadros clínicos de hiperfibrinólisis primaria, exceptuando las secundarias a déficit congénito de antiplasmina o en algunas hepatopatías por falta de aclaramiento de activadores y síntesis reducida de inhibidores.

Manifestaciones clínicas

Se distinguen formas agudas y subagudas. Estas últimas pueden definirse como procesos de media o larga duración, con coagulopatía de consumo de bajo grado, muchas veces asintomática y sólo detectable por las pruebas de laboratorio. Como ejemplos típicos de ellas está la CID secundaria a la existencia de un feto retenido muerto y también muchos de los cuadros de consumo asociados a neoplasias, en los que pueden coexistir datos biológicos de CID con complicaciones tromboembólicas localizadas.

En las formas agudas, la importancia clínica de la hemorragia es muy variable, pudiendo limitarse al sangrado por los lugares de punción o producir manifestaciones más difusas, como equimosis múltiples, sangrado por mucosas o graves hemorragias gastrointestinales. Las lesiones necróticas cutáneas hemorrágicas y la gangrena en los miembros, especialmente distal, pueden observarse en casos graves de sepsis meningocócica, que cuando se asocia a la necrosis hemorrágica de las glándulas suprarrenales evoluciona hacia el shock rápidamente mortal (síndrome de Waterhouse-Friderichsen). Esta forma de *purpura fulminans* debe distinguirse de la denominada idiopática, que se presenta principalmente en la infancia, durante la convalecencia de una enfermedad bacteriana o vírica (escarlatina, varicela), desarrollando lesiones cutáneas de necrosis hemorrágica secundaria a infartación por obstrucción trombótica de los vasos. No suele afectar a otros órganos, y va acompañada de signos de CID, como trombocitopenia e hipofibrinogenemia.

Un tema que ha sido objeto de larga discusión es el papel que pueden desempeñar los depósitos de fibrina en la microcirculación de ciertos órganos en la morbimortalidad de la enfermedad subyacente, especialmente en el caso de la sepsis. Aunque la influencia de estos depósitos en el fallo orgánico parece lógica, no es probable que sea su única causa y, de hecho, varios estudios han fracasado en demostrar que el tratamiento de la CID con heparina reduzca la mortalidad en el enfermo séptico. Solamente en el estudio PROWESS[13], la administración de proteína C activada humana recombi-

nante a pacientes con sepsis grave, demostró una reducción significativa del riesgo relativo de muerte, pero queda por establecer qué papel desempeñan los efectos antitrombóticos y cuál los antiinflamatorios del fármaco en estos resultados.

Situaciones clínicas que pueden asociarse con CID

Enfermedades infecciosas

La sepsis y, especialmente, el shock séptico son la situación clínica con mayor frecuencia asociada con la CID. Puede ser causada en similar proporción por gérmenes gramnegativos, debido al papel de las endotoxinas, como grampositivos, por acción de los mucopolisacáridos. Su presencia en las infecciones víricas es poco frecuente, pero puede presentarse en aquellas que van asociadas con afectación directa de la célula endotelial y expresión de factor tisular, denominadas fiebres hemorrágicas (dengue, Ébola).

Neoplasias

Casi el 50% de los pacientes con cáncer presentan alteraciones hemostáticas sugestivas de coagulopatía de consumo, y esta cifra se eleva al 90% en caso de diseminación metastásica; sin embargo, la frecuencia de CID clínicamente significativa es mucho más baja. En la generación de la alteración hemostática desempeña un papel estelar la expresión de TF en la superficie de muchos tumores sólidos, el cual también es expresado por los monocitos en respuesta a antígenos tumorales o a inmunocomplejos. Algunos tumores (cáncer de pulmón, de mama o colorrectal) pueden generar también una cisteinproteasa con capacidad para activar el factor X, contribuyendo a la activación de la coagulación[14]. Un caso especial es el de la leucemia aguda promielocítica, en la que clásicamente se observaba un cuadro hemorrágico grave responsable del 10-20% de la mortalidad. El elemento más destacado en él era la activación fibrinolítica debida a la liberación de t-PA y u-PA por las células leucémicas, que coexistía con un cuadro de CID secundario a una simultánea liberación de TF y cisteinproteasas, dando lugar al hallazgo de depósitos diseminados de fibrina en la necropsia en el 20% de casos. La introducción del ácido holo-transretinoico (ATRA) en el tratamiento de la enfermedad ha reducido espectacularmente la incidencia de estas complicaciones.

Otras situaciones clínicas que pueden complicarse con CID

Cabe citar ante todo, por su relativa mayor frecuencia, las complicaciones obstétricas (eclampsia, síndrome HELLP, desprendimiento precoz de placenta, placenta previa, embolia de líquido amniótico, feto muerto retenido). También los pacientes con grandes traumatismos, especialmente cuando van acompañados de shock, y en los traumatismos craneoencefálicos pueden desarrollar cuadros biológicos y clínicos de CID. Lo mismo puede ocurrir en caso de quemaduras de gran extensión (necrosis de tejidos). En los accidentes transfusionales (transfusión incompatible), los elementos desencadenantes son la liberación de sustancias procoagulantes a partir de los eritrocitos hemolizados y la presencia de inmunocomplejos. Por último, cabe citar la mordedura de algunas serpientes cuyo veneno contiene activadores directos de la coagulación. En la tabla 36.4 se presenta, de forma resumida, la relación de situaciones clínicas que pueden complicarse con CID.

Durante años se ha especulado con la posibilidad de una situación de CID crónica en las hepatopatías, especialmente en la cirrosis hepática no complicada. Probablemente, ésta no existe o carece de interés clínico por su escasa relevancia. Como datos que se deben considerar a favor de esta opinión está: el hecho de que el déficit de factores de coagulación se debe fundamentalmente a la falta de síntesis y no afecta al factor VIII (factor VIII), exceptuando la necrosis hepática aguda, que suele asociarse a CID; la reducción del nivel de fibrinógeno es, en general, tardía; cuando existe una elevación del dímero-D sería probablemente atribuible a la falta de aclaramiento, que afecta también a los activadores de la fibrinólisis, lo que unido a la reducida síntesis de inhibidores, daría lugar a un aumento de la actividad fibrinolítica. Por último, cabe recordar la baja incidencia de microtrombos (2,2%) en los tejidos de los pacientes que fallecen de enfermedad hepática avanzada[14].

TABLA 36.4

Principales situaciones clínicas que pueden complicarse con coagulopatía de consumo

CID	
Procesos infecciosos	Bacterianos: sepsis por gramnegativos y grampositivos
	Víricos: fiebres hemorrágicas (dengue, Ébola)
	Parasitarios: paludismo grave
Neoplasias	Tumores sólidos: próstata, mama, ovario, pulmón, intestino
	Leucemia aguda promielocítica (M3); otras leucemias agudas
Accidentes obstétricos	Eclampsia y síndrome HELLP, desprendimiento precoz de placenta, placenta previa, embolia de líquido amniótico, feto muerto retenido, aborto séptico
Necrosis de tejidos	Grandes traumatismos, traumatismos craneoencefálicos, quemaduras extensas, transfusión incompatible, necrosis hepática aguda
Varios	Mordedura de serpientes, reacciones alérgicas o tóxicas graves
Coagulopatías de consumo localizadas	Hemangiomas gigantes (síndrome de Kasabach-Merritt)
	Aneurisma aórtico

Diagnóstico

Dada la escasa especificidad de las pruebas de laboratorio habitualmente utilizadas, es fundamental la valoración clínica del paciente, para identificar la existencia de una situación clínica que con frecuencia se asocie a la CID. En cuanto al diagnóstico biológico, se basa en la existencia de trombocitopenia, prolongación de las pruebas de coagulación básicas (TP y TTPA) secundaria a un déficit de factores múltiple que afecta a los factores V y VIII, la elevación de la concentración de los productos de la fibrinólisis de la fibrina estabilizada (dímero-D) y el descenso de la actividad de la antitrombina. La existencia de una concentración normal de fibrinógeno no excluye la existencia de un consumo, ya que, al tratarse de un reactante de fase aguda, su valor inicial puede ser muy elevado, y un marcado descenso sólo lo

devolverá al margen de referencia. En cambio, las cifras por debajo de dicho margen tienen un claro valor diagnóstico. Insistimos en que la valoración de las pruebas de laboratorio sólo puede realizarse en el contexto del cuadro clínico, ya que casi todas ellas (excepto el descenso del factor VIII) pueden ser halladas en las hepatopatías crónicas.

Otras pruebas más específicas de la activación de la coagulación y fibrinólisis, como complejos trombina-antitrombina, fragmento 1 + 2 de la protrombina, fibrinopéptido A o complejos plasmina-antiplasmina, no están disponibles en muchos laboratorios y, además, su positividad señala una activación de la coagulación *in vivo*, que puede no corresponderse con un cuadro de CID clínicamente significativo, por lo que su valor diagnóstico es escaso y son más adecuados para el campo de la investigación.

Tratamiento

El principal objetivo de la terapéutica debe ser la eliminación de la alteración desencadenante de la CID. Esta aseveración es especialmente válida para los cuadros de consumo asociados a complicaciones obstétricas, agudas o subagudas, en las que el principal objetivo es vaciar el contenido uterino. Cuando la eliminación de la causa subyacente no es alcanzable, al menos a corto plazo, la actitud terapéutica se debe limitar a las medidas de soporte destinadas a reducir las manifestaciones hemorrágicas, que analizaremos a continuación.

El soporte hemostático consiste en la transfusión de plasma fresco en dosis suficiente para tratar de mantener la razón paciente/control del TP y TTPA inferior a 1,5; de concentrados de fibrinógeno si la concentración de éste es menor de 1 g/L a pesar del aporte de plasma, administrando unos 3 g/día en el adulto, y de concentrados de plaquetas cuando el recuento de éstas sea inferior a 50×10^9/L. Este soporte se ha mostrado eficaz cuando existen manifestaciones hemorrágicas o previamente a procedimientos invasivos, pero no se ha demostrado la utilidad de su administración profiláctica fuera de estas condiciones. Los concentrados de protrombina se consideran contraindicados por su riesgo de agravar la coagulopatía, dado que pueden contener factores de coagulación activados.

El tratamiento con heparina, como ya se ha dicho anteriormente, no ha demostrado una reducción en la mortalidad de los pacientes sépticos con CID, ni una mejoría de la disfunción orgánica asociada, pero tampoco se ha demostrado que su administración aumente las manifestaciones hemorrágicas. Generalmente, se considera que su uso puede ser beneficioso como elemento de soporte para limitar la gravedad del cuadro de consumo, especialmente en los casos en que existan grandes depósitos de fibrina, como en la *purpura fulminans* o en las necrosis distales, y cuando exista una marcada reducción del fibrinógeno plasmático[14]. Las dosis de heparina empleadas son bajas, entre 300 y 500 UI/h en perfusión continua, y suelen asociarse a terapéutica hemostática de soporte, especialmente si existe clínica hemorrágica.

La administración de concentrados de antitrombina sólo ha mostrado, en tres estudios aleatorizados[15], una tendencia al beneficio, no significativa, en la reducción de la mortalidad y en la evolución clínica del paciente séptico con CID. El papel de la proteína C activada recombinante ya ha sido comentado antes y, dejando aparte ciertas irregularidades en el desarrollo del estudio PROWESS[16,17], no está claro que su beneficio en la supervivencia de los pacientes con sepsis esté relacionado solamente con la mejoría de la CID.

Coagulopatías de consumo localizadas

Se incluyen en este apartado aquellas situaciones de consumo localizadas en áreas vasculares limitadas y secundarias a alteraciones morfológicas de los vasos que condicionan un elevado grado de estasis circulatoria. Los principales ejemplos son los cuadros asociados a hemangiomas gigantes (síndrome de Kasabach-Merritt) y a grandes aneurismas aórticos. En ellos, junto con la coagulopatía de consumo suele desarrollarse una intensa respuesta fibrinolítica. Ocasionalmente, el defecto hemostático puede dar lugar a complicaciones hemorrágicas, respondiendo generalmente bien al tratamiento con heparina en bajas dosis y terapéutica de soporte hemostática. Es especialmente necesario aplicar este tratamiento para obtener una corrección hemostática preoperatoria, sea para la eliminación del aneurisma aórtico o para proceder a un trasplante hepático, en caso de hemangioma gigante hepático[18].

ALTERACIONES INMUNOLÓGICAS DE LA COAGULACIÓN

En este apartado se tratará de los inhibidores adquiridos específicos contra un factor que aparecen en pacientes sin coagulopatías congénitas, y de las paraproteinemias monoclonales, como las propias del mieloma múltiple o de la macroglobulinemia de Waldenström que pueden interferir en la hemostasia. No se tratará de los llamados anticuerpos antifosfolípido, ya que no inducen una hipocoagulabilidad real *in vivo*, puesto que sólo prolongan las pruebas de coagulación *in vitro*, en las que la interacción entre factores se produce sobre micelas de fosfolípidos, pero no cuando dicha interacción se realiza sobre membranas celulares (sea *in vivo* o *in vitro*). Por otra parte, no sólo no inducen, como era de esperar, riesgo hemorrágico alguno sino que son un factor de trombofilia adquirida, por lo que serán tratados en el capítulo correspondiente a esas alteraciones.

Inhibidores adquiridos de la coagulación

Los inhibidores adquiridos de la coagulación, también llamados anticoagulantes circulantes, son mayoritariamente anticuerpos contra factores de la coagulación, que pueden estar dirigidos o no contra su epítopo funcional. Sólo escapan de esta definición las sustancias con acción similar a la heparina que se observan ocasionalmente en pacientes neoplásicos, y que, como la heparina, son glucosaminoglucanos, de los que no nos ocuparemos por su rareza.

Los anticuerpos específicos contra factores de la coagulación pueden aparecer en pacientes con déficit congénito del factor, como resultado de su aporte transfusional, o aparecer en sujetos sin déficit previo del factor. Sólo nos ocuparemos de los segundos, ya que los primeros son una complicación del tratamiento de las coagulopatías congénitas, y con ellas serán tratados.

Inhibidores del factor VIII de aparición espontánea

Son los más frecuentes entre los inhibidores de aparición espontánea, a pesar de su relativa rareza (un caso por millón

de habitantes al año). Se presentan con igual frecuencia en ambos sexos y, especialmente, en mayores de 50 años. En la mitad de los casos no existe una enfermedad asociada ni causa atribuible, aunque pueden presentarse en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES), artritis reumatoide, neoplasias o enfermedad inflamatoria intestinal, entre otras, o después de un tratamiento con penicilina. Alrededor del 13% aparecen posparto[19]. En aproximadamente un tercio de los casos se observa la remisión espontánea sin aplicar terapéutica inmunosupresora[20], especialmente en los casos de aparición posparto o inducida por fármacos.

Los anticuerpos son de tipo IgG en la gran mayoría de los casos, y difieren en su cinética de neutralización del factor VIII y en los epítopos contra los que van dirigidos, de los que se presentan en hemofílicos. Las manifestaciones clínicas pueden consistir en una marcada alteración hemostática, con múltiples equimosis, hematomas superficiales o intramusculares, y hemorragia gastrointestinal o urogenital, mientras que en otras ocasiones pueden debutar con un único hematoma traumático.

El diagnóstico de laboratorio se basa en la prolongación del TTPA, que no se corrige en la mezcla con plasma normal, mientras que los valores de TP y tiempo de trombina son normales. La valoración de los factores de la vía intrínseca muestra el déficit selectivo del factor VIII en un paciente sin previa historia de hemofilia. Al igual que en los inhibidores desarrollados por los pacientes hemofílicos, la cuantificación de la actividad se realiza mediante incubación de la mezcla a partes iguales de plasma del paciente y de plasma normal, y determinando el factor VIII residual tras ella. El resultado, como en el caso de los pacientes hemofílicos, se expresa en unidades Bethesda, pero aquí la interpretación de la prueba se hace a menudo difícil, y existe tendencia a infravalorar la actividad del inhibidor. Esto se debe a la frecuente irregularidad de la cinética de neutralización de los inhibidores en pacientes no hemofílicos, y a que algunos de ellos, a pesar de la gravedad de la clínica, propia de una total carencia del factor, presentan cierta actividad del factor VIII en las pruebas *in vitro*, lo que dificulta la valoración del poder neutralizante del inhibidor sobre el factor VIII. Este fenómeno se supone debido a una interferencia del inhibidor en la fijación del factor VIII a la membrana celular *in vivo*, pero no a las micelas de fosfolípido de los reactivos utilizados *in vitro*.

El objetivo del tratamiento es doble; en primer lugar, reducir el cuadro hemorrágico agudo, y en segundo, suprimir la formación del autoanticuerpo contra el factor VIII. Para el primer objetivo, cuando el título del inhibidor es bajo (menor de 10 U Bethesda), tradicionalmente se ha recomendado la transfusión de concentrados de factor VIII, con objeto de obtener una neutralización del inhibidor *in vivo* que permita, a continuación, una elevación de la actividad del factor. Con títulos más altos se han ensayado varias alternativas terapéuticas, especialmente la transfusión de factor VIII porcino, la plasmaféresis, la inmunoabsorción extracorpórea del anticuerpo o la administración de concentrado protrombínico activado, esta última asociada a riesgo de CID o trombosis. Actualmente, el tratamiento de elección es la administración de factor VII activo recombinante, tanto por su eficacia como por su escaso riesgo trombótico (0,5% de los casos en esta indicación). Se administra una primera dosis (4,5 UI/kg en bolo i.v.), que puede ser seguida de una o más dosis hasta lograr la hemostasia[21]. En cuanto a la eliminación del inhibidor, la pauta actualmente recomendada es la administración inicial de prednisona (1 mg/kg) durante 3 semanas, que puede lograr su desaparición, especialmente en pacientes con títulos bajos. Si ésta no se logra, se mantendrá la prednisona asociando ciclofosfamida (2 mg/kg)[22].

Otros inhibidores espontáneos de los factores de coagulación

Los anticuerpos dirigidos contra el complejo formado por la protrombina y la fosfatidilserina son frecuentes como parte del grupo de anticuerpos identificados como anticoagulante lúpico, dentro del síndrome de anticuerpos antifosfolípido, los cuales, como ya se ha dicho, no causan diátesis hemorrágica, pero sí tendencia trombótica. Los inhibidores dirigidos contra la protrombina aislada o contra los factores VII o X son muy raros, y sólo existe un número limitado de casos publicados. De los pocos casos recogidos de inhibidor contra el factor XI en pacientes sin déficit congénito de dicho factor, la mayor parte se han descrito en pacientes con LES.

Alteraciones hemostáticas asociadas con paraproteinemias

Los pacientes con inmunoglobulinas monoclonales en plasma, como en los casos de mieloma múltiple y de macroglobulinemia de Waldenström, pueden presentar alteraciones de la hemostasia[23]. Estas inmunoglobulinas monoclonales pueden unirse a las plaquetas, a los factores de la coagulación o a los componentes del sistema fibrinolítico, alterando la función de cada uno de ellos. También pueden actuar como verdaderos anticuerpos y unirse, de forma específica o no, a las proteínas de la coagulación, produciendo su inhibición funcional o, simplemente, un aumento del aclaramiento de los complejos formados con la inmunoglobulina. Ambos mecanismos dan lugar a una deficiencia del factor o factores afectados, lo que puede traducirse en la aparición de una diátesis hemorrágica.

Ocasionalmente, estas paraproteínas pueden ser metabolizadas y depositadas en el espacio extravascular en forma de sustancia amiloide, la cual puede absorber factores de la coagulación, especialmente el factor X, causando manifestaciones hemorrágicas en la mitad de los casos[24].

DEFICIENCIAS COMPLEJAS DE LA HEMOSTASIA

En este último apartado se revisan las alteraciones de la hemostasia propias de las hepatopatías y, a continuación, las situaciones de riesgo hemorrágico relacionadas con la cirugía, con especial atención a los procedimientos con características especiales, como la cirugía cardíaca con circulación extracorpórea y el trasplante hepático.

Alteraciones hemostáticas en las enfermedades hepáticas

No tendría sentido hablar de modo genérico de las anomalías hemostáticas en las hepatopatías, ya que éstas constituyen un amplio conjunto de enfermedades con muy diversa repercusión en la hemostasia. Así, en las hepatitis víricas sin marcada insuficiencia hepática no suelen hallarse alteracio-

nes de la coagulación, y sólo una moderada trombocitopenia en el 16% de los casos. Por el contrario, en la insuficiencia hepática aguda grave o hepatitis fulminante, que es de causa vírica en la mayoría de los casos, aunque puede tener un origen tóxico o medicamentoso, la alteración hemostática es muy marcada, pues en ella se suma a la falta de síntesis de factores e inhibidores de la coagulación, el desarrollo de un cuadro de CID secundario a la necrosis hepática. En la cirrosis biliar primaria no existe un defecto de síntesis de factores en el hepatocito, pero la colostasis intrahepática da lugar a una falta de ácidos y sales biliares en el intestino, asociada con esteatorrea en más de la mitad de los casos, que puede inducir una disminución de la absorción de la VK y el consiguiente déficit de los factores II, VII, IX y X. Si se corrige este déficit mediante aporte parenteral de VK, no es probable hallar otras alteraciones hemostáticas.

Alteraciones hemostáticas en la cirrosis hepática

La cirrosis hepática, secundaria a alcoholismo o de causa vírica, es la enfermedad hepática con mayores alteraciones hemostáticas y, a la vez, una de las causas más frecuentes de anomalía hemostática que pueden observarse en la clínica.

Reducción de la síntesis de factores e inhibidores de la coagulación

En la cirrosis hepática existe una reducción de la síntesis proteica que condiciona déficit de factores e inhibidores de coagulación y fibrinólisis, que afectan a todos los factores excepto al factor VIII y al factor Von Willebrand. Esta alteración se observa precozmente en las moléculas VK dependientes, tanto en lo que respecta a factores como inhibidores, y a la antitrombina. El factor V sería, probablemente, un mejor marcador del grado de insuficiencia hepática al ser más tardía la reducción de su actividad. Más tardía aún es la reducción del fibrinógeno plasmático, que mantiene niveles dentro del margen de referencia hasta fases avanzadas de la enfermedad, lo que se explicaría por tratarse de un reactante de fase aguda sometido a un proceso inflamatorio crónico. También es tardía la reducción de la actividad de los factores XI y XII, y de otros elementos del sistema de contacto.

La síntesis del factor VIII se realiza fundamentalmente en el hígado (75% del total), lo que se confirma por la corrección de su nivel en el hemofílico A después de un trasplante hepático. A pesar de ello, incluso en las fases avanzadas de la enfermedad, el paciente cirrótico mantiene una actividad plasmática del factor VIII normal o elevada. Esta aparente paradoja ha dado lugar a un debate sobre el tipo celular responsable de la síntesis de dicho factor en el hígado, del que se comentarán algunos resultados recientes. En primer lugar, en varios estudios el análisis inmunohistoquímico muestra que el factor VIII se localiza principalmente en las células endoteliales de los sinusoides y en las células de Kupffer. En coincidencia, mediante hibridación *in situ* se observa que la expresión del mRNA del factor VIII se concentra principalmente en estos mismos tipos celulares, pero no dentro de los hepatocitos. Esto no excluye su expresión en el hepatocito, ya que ésta sí que es detectable por RT-PCR, de mayor sensibilidad. Parece cierto que el hepatocito desempeña un menor papel en la síntesis del factor VIII, ya que la concentración de factor VIII mRNA es tres veces superior en las células endoteliales de los sinusoides aisladas que en él[25]. Estos datos podrían explicar, al menos en parte, porqué la alteración funcional hepática repercute poco en el nivel plasmático del factor VIII, aunque a ello también podrían contribuir el incremento de su síntesis en otros órganos, como el bazo, una mayor producción de factor Von Willebrand[26] (encargado de su transporte en el plasma) y, posiblemente, una reducción del aclaramiento de complejos factor VIII-factor Von Willebrand a nivel hepático.

Síntesis anómala de factores

Además de la reducción en la síntesis, existe una síntesis anómala del fibrinógeno que da lugar a una disfibrinogenemia, con exceso de ácido siálico en su molécula. Ello origina un trastorno en la polimerización de la fibrina, con prolongación desproporcionada de los tiempos de trombina y de reptilase con respecto a los resultados del TP y TTPA. Esta alteración, debida a un aumento de la sialil-transferasa, es especialmente marcada cuando a la cirrosis se asocia la presencia de un hepatoma.

También existe, en pequeña proporción, una hipocarboxilación de factores vitamina K dependientes, no debida a déficit de vitamina K y, por tanto, sin respuesta terapéutica a su administración, atribuible a déficit de la carboxilasa hepática VK dependiente, que contribuiría en alguna medida al déficit de factores VK dependientes. Un defecto de mayores proporciones se observa en pacientes con carcinoma hepatocelular, pudiendo detectarse en su plasma niveles de des-γ-carboxi-protrombina superiores a 100 ng/mL, lo que podría tener un valor diagnóstico y pronóstico[27].

Aumento de la actividad fibrinolítica

En el 31% de los pacientes con cirrosis hepática compensada existe un aumento de la actividad fibrinolítica, con dímero-D elevado, secundaria a la reducción en la síntesis de antiplasmina y de TAFI, y a que los niveles de activadores, especialmente t-PA, son elevados por reducción de su aclaramiento. En los pacientes con ascitis, el aumento de la actividad fibrinolítica alcanza al 93% de los casos, y se le supone que la reabsorción espontánea del líquido ascítico a la circulación contribuye a esta actividad[28]. No está establecido cuál es el papel de esta hiperfibrinólisis en el riesgo hemorrágico del paciente.

Posibilidad de aparición de una CID asociada

En el apartado correspondiente a la CID ya se ha comentado, ya que ésta no sería un hecho común en la cirrosis hepática estable y no complicada[29]. Se ha descrito un cuadro de coagulación intravascular y fibrinólisis aceleradas (AICF) en fases avanzadas de la enfermedad[30], que afecta al 30% de estos pacientes, y se ha supuesto que favorece el desarrollo de una verdadera CID en el caso de complicaciones, como sepsis, cirugía o traumatismos.

Alteraciones de las plaquetas

Existen, con frecuencia, alteraciones plaquetarias cuantitativas y cualitativas. Un recuento de plaquetas menor de 150 $\times$ 10^9/L ha sido descrita en el 64% de los pacientes cirróticos[31], con cifras pocas veces inferiores a 30 $\times$ 10^9/L, lo cual no se asocia, generalmente, con complicaciones hemorrágicas espontáneas. Su principal causa podría ser el hiperesplenismo, existiendo una clara relación entre la trombocitopenia y la presencia de varices gastroesofágicas. Otra causa adicional podría ser la reducción en la producción de plaquetas secundaria a una disminución en la síntesis hepática de trombopoyetina[32]. Por otra parte, no es infrecuente la

existencia de trombocitopatía[33], demostrable por la alteración de las pruebas de funcionalismo plaquetario, que da lugar a una prolongación del tiempo de sangría no proporcional a la cifra del recuento de plaquetas[34].

Complicaciones hemorrágicas en las enfermedades hepáticas

Dejando aparte el cuadro hemorrágico que puede acompañar a la CID secundaria a necrosis hepática aguda, las manifestaciones hemorrágicas espontáneas en las hepatopatías, incluida la cirrosis hepática, son poco frecuentes y, en general, de escasa importancia. Las complicaciones hemorrágicas graves, con riesgo para la vida del paciente, son las hemorragias por rotura de varices gastroesofágicas, que no se pueden calificar de «espontáneas», ya que son consecuencia de la progresiva hipertensión portal. Otro aspecto que merece comentarse por su interés práctico es la valoración de la hemostasia y la preparación para procedimientos invasivos, como una biopsia hepática o intervenciones quirúrgicas mayores o menores.

Hemorragias digestivas altas secundarias a hipertensión portal

Las medidas específicas, tanto profilácticas como terapéuticas, escapan al campo de la hemostasia, y comprenden la administración de vasoconstrictores (vasopresina o sus derivados), taponamiento mediante sonda provista de balón, esclerotерapia o ligadura endoscópicas de las varices, aplicables en la fase aguda, e instauración de una derivación portosistémica percutánea intrahepática (TIPS) cuando han fallado las anteriores técnicas o para prevenir la recidiva hemorrágica.

Dado que la mortalidad y las complicaciones del cuadro son debidas fundamentalmente al desarrollo de un shock hipovolémico, la terapéutica de soporte debe estar dirigida, en primer lugar, a mantener la volemia (cristaloides, coloides) y el transporte de oxígeno (concentrados de hematíes). Un segundo objetivo es lograr un grado de corrección de las alteraciones hemostáticas que no facilite la hemorragia. Para ello, es aconsejable mantener el recuento de plaquetas por encima de 50×10^9/L, mediante transfusión de concentrados de plaquetas, y aportar plasma fresco en cantidad suficiente para mantener la razón de TP y TTPA inferior a 1,5. Debe evitarse la administración de concentrados protrombínicos, por su riesgo de complicaciones trombóticas, debido a que pueden contener factores activados y al reducido nivel de antitrombina de estos pacientes. Cuando la concentración de fibrinógeno sea inferior a 1 g/L, a pesar del aporte de plasma, está indicada la administración de concentrado de fibrinógeno (dosis de 3 g en el adulto). El factor VII activado recombinante se ha mostrado eficaz en la corrección hemostática, sin dar lugar a complicaciones trombóticas, pero debe considerarse siempre como un tratamiento de soporte, y útil para clarificar el campo en los procedimientos locales, sin olvidar que la causa de la hemorragia es la hipertensión portal y no el defecto hemostático[35]. También los antifibrinolíticos (ácido tranexámico o aminocaproico) reducen la hemorragia digestiva alta[36], aunque también deben considerarse como una medida complementaria.

Preparación para procedimientos invasivos

La evaluación analítica de la hemostasia incluirá, además de las pruebas básicas de coagulación (TP, TTPA y fibrinógeno), un recuento de plaquetas, al que cabe añadir el tiempo de sangría si la cifra de éstas es inferior a 100×10^9/L. Éste probablemente podría ser sustituido por la evaluación funcional plaquetaria mediante PFA-100[37], aunque se dispone de escaso respaldo bibliográfico para ello en este tipo de pacientes. La actitud terapéutica se debe basar en los resultados de estas pruebas[38].

Aunque no existen recomendaciones consensuadas sobre este tema, una pauta basada en la experiencia sería la expuesta a continuación (tabla 36.5). Si el TP y/o el TTPA presentan una razón mayor de 1,5, se considera indicada la administración de plasma fresco (15 mL/kg, lo cual corresponde a unas cuatro unidades transfusionales para el adulto). Si la coagulopatía es marcada y el fibrinógeno está reducido, se administran antifibrinolíticos, en general ácido tranexámico por vía endovenosa (1 g por vía i.v. antes del procedimiento) para reducir la hemorragia y las necesidades transfusionales en cirugía. También aquí debe evitarse la administración de concentrados protrombínicos, por su riesgo de complicaciones trombóticas.

TABLA 36.5

Alteración hemostática secundaria a hepatopatía: valoración del riesgo hemorrágico y soporte hemostático para procedimientos cruentos

Valoración del riesgo hemorrágico

- Tiempo de protrombina (TP), tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA), y fibrinógeno plasmático[38]
- Recuento de plaquetas, tiempo de sangría (TS)[34]

Terapéutica de soporte

- Corrección del defecto coagulativo y fibrinolítico:
  Plasma fresco, si TP y/o TTPA > 1,5
  (evitar la administración de concentrados protrombínicos)
  Ácido tranexámico por vía i.v., si el defecto coagulativo es marcado
- Corrección de la hemostasia primaria:
  Si el recuento de plaquetas es < 100 y > 50 $\times 10^9$/L y TS 10-20 min: DDAVP[39]
  Si el recuento de plaquetas es < 100 y > 50 $\times 10^9$/L y TS > 20 min: transfusión de plaquetas + DDAVP
  Si el recuento de plaquetas es < 50 $\times 10^9$/L: transfusión de plaquetas (¿+ DDAVP?)

Véase el texto para una explicación más detallada.

En caso de que el recuento de plaquetas sea igual o superior a 100×10^9/L, se considera que no son necesarias las medidas de soporte de la hemostasia primaria. Si es inferior a esta cifra, pero superior a 50×10^9/L, la actitud depende del resultado del tiempo de sangría. Si éste está conservado, en principio no precisaría tampoco soporte específico. Con una prolongación moderada (10 a 20 minutos) administraríamos DDAVP[39] en dosis de 0,3 µg/kg de peso en 30 minutos, intravenoso, ya que ha demostrado normalizar el tiempo de sangría en el paciente cirrótico. Cuando el tiempo de sangría supera los 20 minutos, se considera indicada la transfusión de plaquetas. En los casos en los que el recuento sea inferior a 50×10^9/L la transfusión de plaquetas parece necesaria y, en todo caso, se asocia la administración de DDAVP, aunque no se conoce su utilidad en el caso de trombocitopenias muy marcadas.

En el caso de la preparación para biopsia hepática percutánea, la aplicación de las recomendaciones expuestas debe tener un carácter especialmente conservador, extremando las medidas de profilaxis hemostática, ya que tras ella se han descrito complicaciones hemorrágicas importantes (hemorragia mayor, hematoma intrahepático o extrahepático o caída no explicada de la concentración de hemoglobina superior a 20 g/L) en el 11% de los pacientes[40].

Problemas hemostáticos en el paciente quirúrgico

La hemorragia es la mayor complicación de la cirugía, e incluso en ausencia de un previo defecto hemostático, las complicaciones del procedimiento quirúrgico pueden conducir a hemorragias importantes. El tratamiento habitual de soporte en estos casos está dirigido solamente a la corrección de la volemia mediante el aporte de cristaloides y coloides, y a asegurar el transporte de oxígeno con la transfusión de concentrados de hematíes. Cuando las pérdidas hemáticas sean considerables, puede establecerse un balance hemostático negativo que perpetúe el sangrado, difuso o localizado, aunque ya no existan causas quirúrgicas que lo justifiquen. En esta situación es necesaria una valoración analítica de la hemostasia, que comprenderá las pruebas de coagulación básicas (TP, TTPA y fibrinógeno) y el recuento de plaquetas, para cuantificar el defecto hemostático y aplicar la terapéutica de soporte hemostático adecuada.

La trombocitopenia es la alteración hemostática más frecuente en el paciente politransfundido, pero no suelen alcanzarse reducciones importantes del recuento de plaquetas hasta la administración de 15 a 20 unidades de concentrado de hematíes. La valoración de la necesidad de transfundir o no plaquetas debe hacerse en función de su cifra de recuento y de las manifestaciones hemorrágicas del paciente.

La Conferencia de Consenso del NIH en 1987 concluía que con recuentos de plaquetas de 50×10^9/L o superiores es improbable que el sangrado se deba a trombocitopenia. A igual conclusión llegaba la Conferencia de Consenso celebrada en Edimburgo en 1997, considerando la posibilidad de elevar la cifra dintel en pacientes con un mayor riesgo hemorrágico, especialmente si éste es intracraneal[41]. Frente a una trombocitopenia importante (recuento menor de 50×10^9/L) y con manifestaciones hemorrágicas, está indicada la transfusión de concentrados de plaquetas; la dosis mínima para un adulto es de un *pool* de fraccionamiento o aféresis, que contiene aproximadamente 4×10^{11} plaquetas, el cual podrá repetirse mientras persista la hemorragia.

Con respecto a la corrección del defecto coagulativo debe recordarse que la Conferencia de Consenso española sobre Indicaciones y riesgos del plasma fresco congelado, de 1993[42], señala que la administración de este hemoderivado en la transfusión masiva está condicionada a la existencia de hemorragia grave y alteraciones significativas de las pruebas de coagulación; es decir, la existencia de una razón paciente/control del TP y/o del TTPA superior a 1,5. La dosis mínima eficaz para un adulto, desde el punto de vista hemostático, sería de 4 unidades[43]. Dos puntos sobre los que no existe acuerdo y así lo refleja dicho consenso, son la necesidad de transfundir plasma, a título preventivo, después de una transfusión masiva, cuando existe una marcada alteración de las pruebas de coagulación (razones P/C superiores a 1,5 en TP y/o TTPA), que no va acompañada, de momento, de sangrado excesivo, o en las hemorragias masivas, en general secundarias a lesión de los grandes vasos, cuando se está haciendo una reposición de grandes cantidades de fluidos y de concentrados de hematíes, y aún no se dispone de un estudio de coagulación. En estas situaciones, dada la controversia existente, la decisión corresponde al médico responsable del paciente, que debe actuar según la situación clínica.

El margen de referencia para la concentración de fibrinógeno plasmático es de 2 a 4 g/L, pero se sabe que con cifras de 1 g/L o incluso inferiores la hemostasia es satisfactoria. La transfusión de plasma fresco aporta fibrinógeno y cubre normalmente las necesidades de este factor si su nivel no es muy bajo. No se dispone de claras recomendaciones de consenso sobre cuándo es necesario aportar fibrinógeno, pero, en general, se acepta que estaría indicada la transfusión de concentrados de fibrinógeno en pacientes cuya concentración plasmática sea inferior a 1 g/L y presenten manifestaciones hemorrágicas[44]. En estos casos, la dosis que se debe administrar es de 1 g/L de volemia plasmática (aproximadamente, 3 g para un adulto).

Alteraciones de la hemostasia en procedimientos quirúrgicos especiales

Cirugía cardíaca con circulación extracorpórea (CEC)

La cirugía cardíaca con CEC se utiliza para la reparación de las válvulas cardíacas o para su sustitución por prótesis valvulares, y para la implantación de injertos vasculares coronarios. Permite trabajar sobre el corazón parado, ya que éste y el pulmón quedan fuera de la circulación del paciente. Durante el procedimiento, se utiliza hipotermia moderada (30-34 °C). El circuito consta de un oxigenador y una bomba que sustituye al corazón, y su cebado con solución cristaloide da lugar a una hemodilución (con un factor de 1,8 a 2,0), lo cual produce un descenso del hematocrito a valores del 20 al 25%. Para impedir la coagulación del circuito se administra al paciente heparina en dosis de 300 a 400 UI/kg. Es fundamental controlar la intensidad de la heparinización para prevenir el desarrollo de microtrombosis con graves consecuencias pulmonares y neurológicas. Para ello se utiliza el tiempo de coagulación activado, que debe mantenerse por encima de los 500 s (normal: 107 ± 13 s). Al término del procedimiento, una vez restaurada la circulación fisiológica, se procede a la neutralización de la heparina mediante sulfato de protamina[45].

Las alteraciones de la hemostasia asociadas a la CEC se deben, en parte, a la propia hemodilución y, a la vez, a la hipotermia, la interacción con la superficie extraña del circuito, que condiciona activación, adsorción y deterioro de plaquetas y proteínas de la coagulación (factores e inhibidores), y la activación de la fibrinólisis y del sistema de contacto, con formación de calicreína[46]. Estas alteraciones son parcialmente corregidas al separar al paciente del circuito y retornarlo a la temperatura fisiológica. Cuando la corrección del defecto sea insuficiente y existan manifestaciones hemorrágicas será preciso aplicar un tratamiento transfusional sustitutivo.

Una importante aportación al control de la hemostasia en la CEC fue la introducción, al final de la década de 1980, de la administración de aprotinina. Ésta es un polipéptido natural que inhibe diversas serinproteasas, como plasmina y calicreína, y que cuando se administra en altas dosis (2×10^6

kIU en la inducción anestésica, seguidas de 0,5 × 10^6 kIU/h hasta el fin de la intervención) reduce el sangrado intraoperatorio y postoperatorio y las necesidades transfusionales en alrededor del 50%[47].

Trasplante hepático

Uno de los principales riesgos de la cirugía para trasplante hepático ortotópico (THO) es la alteración hemostática, la cual condiciona la tasa de mortalidad[48]. En este procedimiento hay que distinguir tres fases: la preanhepática o de disección del hígado, la anhepática, en la que el hígado del paciente es excluido de la circulación y sustituido por el injerto, y la de reperfusión del injerto. En la primera, las principales causas del sangrado son el defecto hemostático preexistente y la complejidad del procedimiento quirúrgico. En la fase anhepática se produce un estado de hiperfibrinólisis debido a la liberación de t-PA y a su falta de aclaramiento hepático. Este estado suele perdurar, en mayor o menor grado, tras la reperfusión del injerto. El uso de aprotinina (2 × 10^6 kIU en la inducción anestésica, seguida de una perfusión continua de 1 × 10^6 kIU/h hasta 2 horas después de la reperfusión del injerto, con una dosis adicional de 1 × 10^6 kIU 30 minutos antes de dicha reperfusión) reduce la actividad fibrinolítica y las necesidades transfusionales preoperatorias y postoperatorias en el 30%[49]. También la administración de ácido tranexámico (10 mg/kg/h) ha demostrado su eficacia en este sentido[50].

El THO requiere una continua monitorización de la hemostasia para modular las necesidades de reposición de hemoderivados. La tromboelastografía ha demostrado ser un método fiable y de rápidos resultados, en parte por la falta de dependencia de un laboratorio externo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Von Kries R, Gobel U. Vitamin K prophylaxis and vitamin K deficiency bleeding (VKDB) in early infancy. Acta Paediatr 1992; 81: 655-657.
2. Puckett RM, Offringa M. Prophylactic vitamin K for vitamin K deficiency bleeding in neonates. Cochrane Database Syst Rev 2000; (4):CD002776.
3. Greer FR. Are breast-fed infants vitamin K deficient? Adv Exp Med Biol 2001; 501:391-395.
4. Monagle PT, Andrew M. Hemorrhagic and thromboembolic complications during infancy and childhood. En: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Clowes AW, George JN, eds. Hemostasis and thrombosis. Filadelfia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001; 1053-1070.
5. Booth SL, Suttie JW. Dietary intake and adequacy of vitamin K. J Nutr 1998; 128:785-788.
6. Cavallaro R, Iovino P, Castiglione F, et al. Prevalence and clinical associations of prolonged prothrombin time in adult untreated coeliac disease. Eur J Gastroenterol Hepatol 2004; 16:219-223.
7. Graham DR, Bellingham AJ, Alstead E, Krasner N, Martindale J. Coeliac disease presenting as acute bleeding disorders. Postgrad Med J 1982; 58:178-179.
8. Vroonhof K, Van Rijn HJ, Van Hattum J. Vitamin K deficiency and bleeding after long-term use of cholestyramine. Neth J Med 2003; 61:19-21.
9. Ingels M, Lai C, Tai W, et al. A prospective study of acute, unintentional, pediatric superwarfarin ingestions managed without decontamination. Ann Emerg Med 2002; 40:73-78.
10. Taylor FB Jr, Toh CH, Hoots WK, Wada H, Levi M; Scientific Subcommittee on Disseminated Intravascular Coagulation (DIC) of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH). Towards definition, clinical and laboratory criteria, and a scoring system for disseminated intravascular coagulation. Thromb Haemost 2001; 86:1327-1330.
11. Levi M, Van der Poll T, Ten Cate H, Van Deventer SJ. The cytokine-mediated imbalance between coagulant and anticoagulant mechanisms in sepsis and endotoxaemia. Eur J Clin Invest 1997; 27:3-9.
12. Levi M, Ten Cate H. Disseminated intravascular coagulation. N Engl J Med 1999; 341:586-592.
13. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, et al. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. N Engl J Med 2001; 344:699-709.
14. Kramer J, Otten HM, Levi M, Ten Cate H. The association of disseminated intravascular coagulation with specific diseases. Réanimation 2002; 11:575-583.
15. Feinstein DI. Diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation: the role of heparin therapy. Blood 1982; 60:284-287.
16. Eisele B, Lamy M, Thijs LG, et al. Antithrombin III in patients with severe sepsis. A randomized, placebo-controlled, double-blind multicenter trial plus a meta-analysis on all randomized, placebo-controlled, double-blind trials with antithrombin III in severe sepsis. Intensive Care Med 1998; 24(7):663-672.
17. Warren HS, Suffredini AF, Eichacker PQ, Munford RS. Risks and benefits of activated protein C treatment for severe sepsis. N Engl J Med 2002; 347:1027-1030.
18. Margarit C, Martínez-Brotons F, Macarulla E, Osorio A, Sarró M, Curto JA. Hemangioma cavernoso gigante hepático y síndrome de Kasabach-Merritt. Rev Clin Esp 1986; 178:283-286.
19. Solymoss S. Postpartum acquired factor VIII inhibitors: results of a survey. Am J Hematol 1998; 59:1-4.
20. Lottenberg R, Kentro TB, Kitchens CS. Acquired hemophilia. A natural history study of 16 patients with factor VIII inhibitors receiving little or no therapy. Arch Intern Med 1987; 147:1077-1081.
21. Abshire T, Kenet G. Recombinant factor VIIa: review of efficacy, dosing regimens and safety in patients with congenital and acquired factor VIII or IX inhibitors. J Thromb Haemost 2004; 2:899-909.
22. Green D, Rademaker AW, Briet E. A prospective, randomized trial of prednisone and cyclophosphamide in the treatment of patients with factor VIII autoantibodies. Thromb Haemost 1993; 70:753-757.
23. Eby C, Blinder M. Hemostatic complications associated with paraproteinemias. Curr Hematol Rep 2003; 2:388-394.
24. Choufani EB, Sanchorawala V, Ernst T, et al. Acquired factor X deficiency in patients with amyloid light-chain amyloidosis: incidence, bleeding manifestations, and response to high-dose chemotherapy. Blood 2001; 97:1885-1887.
25. Hollestelle MJ, Thinnes T, Crain K, et al. Tissue distribution of factor VIII gene expression in vivo—a closer look. Thromb Haemost 2001; 86:855-861
26. Hollestelle MJ, Geertzen HG, Straatsburg IH, Van Gulik TM, Van Mourik JA. Factor VIII expression in liver disease. Thromb Haemost 2004; 91:267-275.
27. Nagaoka S, Yatsuhashi H, Hamada H, et al. The des-gamma-carboxy prothrombin index is a new prognostic indicator for hepatocellular carcinoma. Cancer 2003; 98:2671-2677.
28. Agarwal S, Joyner KA Jr, Swaim MW. Ascites fluid as a possible origin for hyperfibrinolysis in advanced liver disease. Am J Gastroenterol 2000; 95:3218-3224.
29. Ben-Ari Z, Osman E, Hutton RA, Burroughs AK. Disseminated intravascular coagulation in liver cirrhosis: fact or fiction? Am J Gastroenterol 1999; 94:2977-2982.
30. Joist JH. AICF and DIC in liver cirrhosis: expressions of a hypercoagulable state. Am J Gastroenterol 1999; 94:2801-2803.
31. Bashour FN, Teran JC, Mullen KD. Prevalence of peripheral blood cytopenias (hypersplenism) in patients with nonalcoholic chronic liver disease. Am J Gastroenterol 2000; 95:2936-2939.
32. Kawasaki T, Takeshita A, Souda K, et al. Serum thrombopoietin levels in patients with chronic hepatitis and liver cirrhosis. Am J Gastroenterol 1999; 94:1918-1922.

CAPÍTULO 37

Trombosis e hipercoagulabilidad

J. Mateo, A. Santamaría y J. Fontcuberta

ÍNDICE

Introducción
Patogenia de la trombosis
Factores trombogénicos
Patogenia de la trombosis arterial
Patogenia de la enfermedad tromboembólica venosa
Estados de riesgo trombótico
Trombofilia
Trombofilia adquirida
Investigación biológica de la trombofilia
Terapéutica antitrombótica en los estados de trombofilia
Profilaxis en situaciones de riesgo en pacientes con trombofilia
Trombofilia y embarazo
Trombofilia y anticonceptivos
Bibliografía

INTRODUCCIÓN

Los trombos pueden formarse en cualquier localización del sistema cardiovascular, incluyendo las venas, las arterias, el corazón y la microcirculación. Las complicaciones de la trombosis están ocasionadas por los efectos de la obstrucción del vaso o por la embolización a distancia de material trombótico y, con menor frecuencia, por consumo de factores hemostáticos. Habitualmente, los trombos venosos aparecen en las extremidades inferiores. Con frecuencia son silentes, pero pueden producir síntomas agudos si causan inflamación de la pared venosa, obstrucción al flujo o si embolizan en la circulación pulmonar. Tardíamente se producen lesiones en las válvulas venosas.

La trombosis arterial suele asociarse con patología vascular previa, fundamentalmente con la aterosclerosis. Produce manifestaciones clínicas causadas por la isquemia tisular, por obstrucción o por embolización en la microcirculación distal. Los trombos intracardíacos se forman sobre las válvulas lesionadas o inflamadas, en el endocardio adyacente a una zona de infarto de miocardio, en una cavidad cardíaca discinética o dilatada, o en válvulas protésicas o dispositivos endovasculares. Suelen ser asintomáticos si permanecen dentro del corazón, pero pueden causar importantes y desastrosas complicaciones si embolizan en la circulación sistémica. La trombosis diseminada en la microcirculación es una complicación de la coagulación intravascular sistémica. Los microtrombos pueden producir necrosis isquémica o hemorragias por consumo de plaquetas y factores de coagulación.

Los trombos están formados por fibrina y células sanguíneas. La proporción relativa de un tipo y otro de células y de la fibrina está influida por factores hemodinámicos. Por ello, las proporciones son diferentes en los trombos arteriales o venosos[1]. El trombo arterial se forma en un ambiente de alto flujo, y está formado principalmente de filamentos de fibrina y plaquetas[2]. El trombo venoso se forma en áreas de estasis, y está compuesto por hematíes entremezclados con fibrina y relativamente pocas plaquetas.

A medida que envejecen, los trombos cambian estructuralmente. Los leucocitos acuden atraídos por factores quimiotácticos liberados por las plaquetas o por fragmentos de proteínas plasmáticas, y se incorporan al trombo[1]. Los agregados de plaquetas son reemplazados progresivamente por fibrina, la cual es eventualmente digerida por las enzimas fibrinolíticas liberadas por los leucocitos y las células endoteliales[3,4]. El trombo arterial suele formarse en zonas de flujo alterado y en los lugares de rotura de placas de aterosclerosis que exponen el subendotelio trombogénico a las plaquetas y a los factores de la coagulación. Además, la rotura de la placa puede producir una estenosis adicional por hemorragia intraplaca. Cuando el flujo es rápido, el trombo puede ocluir parcialmente el vaso o embolizar a distancia. Cuando el flujo es bajo y el grado de estenosis es importante, o si el estímulo protrombótico es muy intenso, el trombo puede ser totalmente oclusivo. Los trombos no oclusivos pueden incorporarse a la pared vascular y producir una aceleración del crecimiento de las placas de ateroma[1].

PATOGENIA DE LA TROMBOSIS

La trombosis puede producirse cuando existe un fracaso en el balance entre los factores trombogénicos y los mecanismos antitrombóticos protectores.

Los factores protrombóticos son: *a*) alteración de las células endoteliales; *b*) pérdida del endotelio y exposición del subendotelio; *c*) activación de las plaquetas por interacción con agonistas circulantes o con el colágeno subendotelial; *d*) activación de la coagulación; *e*) inhibición de la fibrinólisis, y *f*) estasis.

Los mecanismos antitrombóticos son: *a*) las propiedades antitrombóticas del endotelio intacto; *b*) la neutralización de los factores activados por componentes unidos al endotelio, como heparán-sulfato, trombomodulina y receptor endotelial de la proteína C; *c*) la neutralización de los factores de la coagulación por inhibidores naturales; *d*) la dilución de los factores activados y la disrupción de agregados plaquetarios por el flujo sanguíneo; *e*) el aclaramiento de factores activados por el hígado, y *f*) la disolución de los trombos de fibrina por el sistema fibrinolítico.

Factores trombogénicos

Activación o destrucción del endotelio

El endotelio normal intacto tiene propiedades antitrombóticas: no activa ni las plaquetas ni los factores de la coagulación[5]. Además, el endotelio contiene y elabora componentes que neutralizan los factores de coagulación activados, inhiben la agregación de las plaquetas y la adhesión, y proporcionan una superficie para la activación de la fibrinólisis. Estas propiedades, que contribuyen a su tromborresistencia, se pierden o modifican cuando el endotelio se estimula o se lesiona.

Activación del endotelio

Las células endoteliales son activadas cuando se exponen a endotoxina, citocinas como la interleucina-1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral (TNF), la trombina, la hipoxia o a tensiones por cizallamiento. Las células endoteliales estimuladas sintetizan factor tisular (TF) y PAI-1 e internalizan la trombomodulina. Además, poseen propiedades proagregantes, ya que disminuyen la liberación de PGI2, y aumentan la secreción de PAF. La IL-1 y el TNF se producen en los monocitos y macrófagos estimulados y en otras células en respuesta a la lesión tisular, y son importantes mediadores en la respuesta trombogénica al traumatismo, cirugía, inflamación y a agentes lesivos, como los quimioterápicos.

Destrucción del endotelio

Cuando las células endoteliales gravemente lesionadas se pierden, el subendotelio queda expuesto a las plaquetas y a los factores de coagulación. Las plaquetas se unen al subendotelio a través de una interacción que implica a las glucoproteínas (GP) de membrana, principalmente a la GP Ib, con las proteínas subendoteliales: el factor Von Willebrand, el colágeno, la fibronectina y la vitronectina. Cuando las plaquetas interactúan con el subendotelio, se adhieren y se agregan entre sí, formando un trombo mural que es eventualmente estabilizado por fibrina.

Clínicamente, la lesión endotelial por lesión directa se observa en angioplastias, procedimientos endovasculares en general, en el aislamiento de las venas safenas durante la intervención de *bypass* aortocoronario, en la torsión de la vena femoral que se produce durante la cirugía de cadera, en las quemaduras o en lesiones vasculares directas. La pérdida endotelial puede aparecer de manera más sutil en lesiones producidas por inmunocomplejos, anoxia, infecciones víricas o bacterianas, situaciones de compromiso hemodinámico, tóxicos, sustancias procedentes del tabaco, niveles elevados de colesterol o enzimas liberadas de las plaquetas y leucocitos en estados inflamatorios[5-7]. La lesión vascular por algunos de estos factores puede contribuir a la formación del ateroma y a la trombosis arterial. La lesión vascular y el flujo alterado se potencian entre sí.

Papel de las plaquetas en la trombogénesis

Las plaquetas participan en interacciones que son fundamentales en la trombogénesis. Se adhieren a diferentes superficies (adhesión plaquetaria), cambian de forma emitiendo seudópodos, secretan el contenido de sus gránulos (reacción de liberación plaquetaria), se unen en agregados (agregación plaquetaria) y alteran su superficie de manera que facilitan las reacciones de activación de la coagulación (actividad procoagulante).

Adhesión plaquetaria

Está mediada por receptores de membrana, alguno de los cuales pertenecen a la familia de las integrinas, caracterizada por su afinidad por los péptidos que contienen la secuencia arginina-glicina-aspártico (RDG). Sin embargo, el principal receptor de adhesión plaquetaria no es una integrina, sino el complejo glucoproteico GP Ib-IX, cuyo principal ligando es el factor Von Willebrand. Otra glucoproteína, la GP Ia-IIa es el receptor del colágeno. También son receptores de la fibronectina, laminina y vitronectina. Todas estas proteínas están presentes en la matriz subendotelial de los vasos normales y en las placas ateroscleróticas[1,5,8]. Las proteínas adhesivas más importantes son el colágeno y el factor Von Willebrand.

Reacción de liberación plaquetaria

Los agentes proagregantes como el ADP, el colágeno, la trombina, la adrenalina, el PAF y el tromboxano A_2, hacen que las plaquetas liberen el contenido de sus gránulos[9]. Exis-

ten dos tipos de gránulos, los densos que contienen serotonina, ADP y Ca^{++}, y los α, que contienen sustancias específicas de las plaquetas (PF4, β-tromboglobulina, PDGF) y otras proteínas como fibrinógeno, factor V, factor Von Willebrand, cininógeno de alto peso molecular, α_1-antitripsina y α_2-macroglobulina. Los agonistas que inducen la liberación también inducen la síntesis de prostaglandinas en las plaquetas, que finalizan en la liberación de tromboxano A_2.

Agregación plaquetaria

La agregación plaquetaria puede ser inducida por ADP, colágeno, trombina, tromboxano A_2 y adrenalina. La reacción de agregación está precedida por un cambio en la forma de las plaquetas por la contracción de la actomiosina plaquetaria, que va acompañada de la centralización del sistema microtubular. Morfológicamente, las plaquetas emiten seudópodos. La agregación plaquetaria requiere la integrina GP IIb-IIIa, que es el principal receptor del fibrinógeno y también del factor Von Willebrand. En contraste con la GP-Ib, la GP IIb-IIIa sólo es funcional si las plaquetas son activadas. Su exposición y su unión al fibrinógeno es la vía fisiológica por la cual los agentes proagregantes causan agregación plaquetaria. Prácticamente, todos los agonistas de la agregación plaquetaria actúan por una vía común que está relacionada con la elevación de la concentración citoplasmática de calcio iónico a partir del sistema canalicular. La captación de Ca^{++} en el sistema canalicular es AMPc dependiente. El incremento del AMPc reduce la movilización de Ca^{++}. La prostaciclina es un potente activador de la adenilciclasa plaquetaria, por lo que produce incrementos de AMPc y, en consecuencia, ejerce efectos antiagregantes e inhibe la reacción de liberación.

Actividad procoagulante de las plaquetas

La generación de trombina en el plasma se acelera en presencia de plaquetas. Las plaquetas estimuladas adquieren una capacidad importante para catalizar las interacciones entre los factores de la coagulación activados. Las interacciones entre los factores IXa y VIII y entre los factores Xa, V y protrombina se producen en la superficie de las membranas plaquetarias, donde la eficiencia de las reacciones está incrementada[1]. Los factores vitamina-K dependientes se unen a la membrana fosfolipídica mediante los residuos γ-carboxiglutámicos en un proceso dependiente del Ca^{++}. Se han identificado receptores para el factor Xa y para el complejo factor VIII-Von Willebrand en la superficie de la membrana plaquetaria. La unión del factor Xa a su receptor, el factor Va, lo mantiene protegido de su inactivación por la antitrombina.

Activación de la coagulación

El proceso de la coagulación implica una serie de complejos pasos que finalizan en la formación de un coágulo de fibrina[10]. Los factores de coagulación circulan en forma de cimógenos o procofactores. Cada cimógeno se convierte en factor activado (enzima) que, a su vez, activa el siguiente factor. En cada paso en la secuencia de la coagulación, el sistema se amplifica de una manera explosiva, y se culmina en la formación de trombina, la enzima final que convierte el fibrinógeno en fibrina. La trombina, a su vez, es un importante estímulo de la agregación plaquetaria, activa el factor V, el VIII y el XIII.

La mayoría de las reacciones claves de la coagulación son dependientes de la presencia de fosfolípidos y Ca^{++}, con excepción de la interacción de la trombina y el fibrinógeno, que es independiente del Ca^{++} y de los fosfolípidos.

In vivo (v. fig. 33.4), las reacciones de coagulación se inician por la exposición del factor tisular (TF) a la sangre. Entonces, el factor VII se activa (VIIa). El factor VIIa es capaz de activar el factor X y el IX. La activación del factor X, hace que se generen cantidades pequeñas de trombina, ya que el TFPI inhibe eficazmente esta vía siempre que la exposición de TF no sea masiva. Esta generación de trombina es suficiente para activar otros factores que serán necesarios en las reacciones de coagulación (factor Va, VIIIa, XIa) y también las plaquetas. El complejo TF/VIIa activa el factor IX y esta vía no se inhibe por el TFPI. Los niveles de IXa aumentan, además, por la acción del XIa. El IXa en unión al VIIIa activa el factor X, y el Xa unido al Va activa la protrombina, y se genera trombina en cantidades muy importantes. La trombina degrada el fibrinógeno para formar fibrina que, posteriormente, es estabilizada por el factor XIIIa. La trombina unida a la fibrina es resistente a la inhibición de la antitrombina.

Alteraciones del flujo sanguíneo

En los vasos normales el flujo sanguíneo sigue un patrón laminar, con los hematíes que tienden a localizarse en el centro de la luz y las plaquetas en la zona más periférica, favoreciéndose así las interacciones de las plaquetas con el endotelio. En las bifurcaciones de los vasos y en las zonas en las que las paredes están alteradas, con frecuencia por placas ateroscleróticas, se producen flujos turbulentos que favorecen la deposición de las plaquetas. Estas situaciones favorecen la trombosis en las arterias. En el caso de las trombosis venosas, es más importante la ralentización del flujo, por lo que la trombosis suele originarse en los nidos de las válvulas venosas de las venas principales de las extremidades inferiores.

Mecanismos protectores

Normalmente, la trombogénesis está contrarrestada por diversos mecanismos protectores de gran eficiencia. Éstos incluyen la presencia de un endotelio intacto, los inhibidores de la coagulación, el aclaramiento hepático de factores, el sistema fibrinolítico y la dilución de los factores por efectos del flujo sanguíneo.

Propiedades antitrombóticas del endotelio

Los glucosaminoglucanos de la superficie endotelial y la trombomodulina son potentes inhibidores de la coagulación, mientras que la generación endotelial de prostaciclina, óxido nítrico y activadores de la fibrinólisis limitan la agregación de las plaquetas y la deposición de fibrina[5]. El receptor endotelial de la proteína C también contribuye a la eficiencia antitrombótica del endotelio.

La trombina generada se une a la trombomodulina y pierde su actividad procoagulante (de activar los factores V, VIII, XIII y fibrinógeno). El complejo trombina-trombomodulina activa la vía proteína C, cuya principal misión es inactivar los factores VIII y V, bloqueando la generación de Xa y IIa. Además, el receptor endotelial de la proteína C activada aumenta la eficiencia de estas reacciones.

La trombina también se une al heparán-sulfato de la superficie endotelial. Esta unión aumenta de manera muy importante la eficiencia de la antitrombina en la neutralización de la trombina.

Sistema fibrinolítico

La reacción básica del sistema fibrinolítico es la conversión del plasminógeno (proenzima) en plasmina (enzima activa) por una hidrólisis mediada por varios activadores del plasminógeno. Los activadores del plasminógeno son sintetizados y liberados por células endoteliales y otros tejidos. La plasmina es capaz de hidrolizar la fibrina y otras proteínas plasmáticas de la coagulación, incluyendo el fibrinógeno. La actividad de este sistema fibrinolítico está modulada por inhibidores que neutralizan a los activadores del plasminógeno y el efecto proteolítico de la plasmina[3,5].

La fibrinólisis fisiológica tiene lugar en la fibrina y en las superficies celulares. Durante la formación de fibrina, el plasminógeno se une a la fibrina mediante unas zonas de alta afinidad (*lysine-binding-sites;* LBS), y se incorpora al trombo. El activador tisular del plaminógeno (t-PA), liberado por el endotelio, se une a un receptor específico de la fibrina, y convierte el plasminógeno en plasmina. La plasmina hidroliza el Glu-plasminógeno nativo y se forma Lys-plasminógeno, que tiene mayor afinidad por la fibrina. La plasmina unida a la fibrina está protegida de la inhibición por la α_2-antiplasmina. Cuando la plasmina se genera libre en plasma, se inactiva rápidamente por la α_2-antiplasmina, y el exceso, por la α_2-macroglobulina. En el caso del tratamiento trombolítico, estos inhibidores son superados por el exceso de activador, y se produce la hidrólisis de los factores de la coagulación.

La fibrinólisis fisiológica también se lleva a cabo sobre la superficie del endotelio. Las células endoteliales pueden unir t-PA y plasminógeno. El t-PA unido a las células endoteliales está protegido de la inhibición por el PAI-1. La trombina puede proteger los trombos de la fibrinólisis porque aumenta la liberación de PAI-1 endotelial y porque activa una carboxipeptidasa plasmática, el TAFI (*thrombin activable fibrinolysis inhibitor*), que es capaz de inhibir la fibrinólisis. Hay evidencias de que la alteración de la fibrinólisis predispone a la trombosis postoperatoria y a la trombosis coronaria.

Patogenia de la trombosis arterial

La trombosis arterial está íntimamente relacionada con la aterosclerosis. En una primera fase, se produce el desarrollo de las placas de ateroma, en el que están implicados la proliferación de músculo liso y el acúmulo de lípidos en la íntima. Esto produce un estrechamiento de la luz de los vasos, y puede causar obstrucción crónica al flujo. Esto es lo que ocurre, por ejemplo, en la angina estable. En una segunda fase, la placa de ateroma puede volverse inestable, fisurarse, sufrir hemorragias intraplaca, y producirse una trombosis sobre la placa. Esto lleva a los síndromes isquémicos agudos, como el infarto de miocardio, la angina inestable, la muerte súbita y el ictus isquémico. La aterosclerosis es una enfermedad de la íntima de las arterias de mediano o gran calibre, del tamaño de las arterias coronarias o cerebrales hasta la aorta. No afecta a las arterias de menos de 300 µm de diámetro que se hallan dentro de los órganos. La afectación de la íntima es parcheada, no difusa, llevando a la formación de placas fácilmente visibles macroscópicamente. La localización de las placas está determinada probablemente por la interacción de fuerzas hemodinámicas sobre la superficie endotelial. Las lesiones más tempranas se producen en las zonas de poca tasa de cizallamiento, que son zonas de máxima adhesión de leucocitos y de transferencia de lípidos.

Las placas están formadas principalmente por proteínas constituyentes del tejido conjuntivo (colágeno, proteoglucanos, elastina) producidas por las células musculares lisas, que han migrado desde la media a la íntima. Además, las placas tienen lípidos procedentes del plasma, bien libres o en el interior de células espumosas. El interior de las placas es muy rico en factor tisular. Esto es importante en los procesos de inestabilización de la placa, ya que su exposición a la sangre es muy trombogénica. Recientemente, se está reconociendo el importante papel que desempeña la inflamación en las complicaciones de las placas de ateroma. Las células espumosas son macrófagos activados capaces de liberar IL-1 y TNF. Estas citocinas incrementan la expresión de moléculas de adhesión y favorecen la migración de monocitos dentro de la íntima así como la expresión de factor tisular. En la inestabilización de las placas de ateroma, los estados inflamatorios pueden desempeñar un papel. Recientes estudios han medido marcadores inflamatorios como la proteína C reactiva (PCR), y han observado que es un factor independiente de infarto y muerte en pacientes coronarios[11]. También se han implicado agentes infecciosos, como clamidias o citomegalovirus (CMV), en la inestabilización y complicación de las placas.

Trombosis en síndromes isquémicos agudos

El curso clínico de los pacientes con aterosclerosis está jalonado por episodios agudos de infarto de miocardio, angina inestable, ictus o incluso muerte súbita. Existen pruebas abundantes de que estos episodios están desencadenados por trombosis sobre placas ateroscleróticas.

Factores precipitantes de trombosis sobre placas de ateroma

En la cuarta parte de los casos, los trombos se sobreponen a la placa sin que en ella existan cambios recientes, pero en la mayoría de los casos existen lesiones profundas en la placa, como desgarros que se extienden desde la luz vascular a lo más profundo de la íntima. Esto hace que esté expuesta una mayor cantidad de colágeno y de TF, que iniciarían la trombosis, y el trombo se iniciaría en el interior de la placa, inflando la placa y haciendo que se ocluya más rápidamente la luz. El tamaño de los desgarros que se observan en las placas oscila desde fisuras microscópicas hasta lesiones observables a simple vista. Incluso puede desprenderse la parte que recubre el núcleo de la placa, produciéndose una ulceración. El interior de la placa es intensamente trombogénico, ya que es capaz de activar las plaquetas y la coagulación.

Factores de riesgo trombótico en trombosis arterial

En la enfermedad tromboembólica venosa, como se verá más adelante, existen proteínas plasmáticas o mutaciones o polimorfismos en el DNA, que se han relacionado con el riesgo de padecer trombosis. Diversos estudios han investigado el papel de alteraciones en genes relacionados con la hemostasia en pacientes con enfermedad trombótica arterial. En el caso de las glucoproteínas de membrana, existen estudios que han relacionado el polimorfismo PI^{A2} del gen de la GP IIIa con riesgo de infarto de miocardio[12], aunque otros estudios ponen en duda esta asociación[13]. Otros autores han encontrado un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular y cerebrovascular en pacientes con los polimorfismos HPA-2b y VNTR C/B de la GP-Ibα[14]. Diversos estudios epidemiológi-

cos relacionan alteraciones genéticas en genes relacionados con la hemostasia y la enfermedad aterotrombótica. Así, se han descrito niveles elevados de factor VII en pacientes cardiovasculares. Iacovello et al encontraron efecto protector de infarto, de dos polimorfismos del gen del factor VII que se asocian con niveles inferiores de factor VII[15]. Otros autores han encontrado mayor prevalencia de la mutación factor V Leiden y de la mutación G20210A del gen de la protrombina en mujeres con infarto, en especial si son fumadoras[16,17]. También se ha observado una mayor prevalencia de mutaciones en el gen de la trombomodulina[18,19]. En otro estudio se halló un efecto protector de una mutación común en el gen del factor XIII[20]. También se han encontrado niveles elevados de PAI-1 en pacientes con enfermedad cardiovascular, y se han relacionado con un polimorfismo (4G/4G) en el promotor del gen. Otros autores han hallado niveles elevados de factor VIII y de factor Von Willebrand en pacientes con ictus isquémico[21]. También los pacientes homocigotos para el polimorfismo C46T del gen del factor XII mostrarían más riesgo de infarto e ictus isquémico[22,23]. Por último, recientemente se está dando relevancia a los niveles elevados de fibrinógeno en pacientes con enfermedad cardiovascular. El fibrinógeno se incrementa con la edad y en los fumadores. También los exfumadores muestran niveles superiores. Otras situaciones que incrementan los niveles de fibrinógeno son las siguientes: factores hereditarios (polimorfismo G455A en el promotor del gen de la cadena β del fibrinógeno), embarazo, menopausia, anticonceptivos hormonales, obesidad, hipercolesterolemia, diabetes, estrés estacional (invierno) e infección. Puede disminuir con el ejercicio físico y el consumo moderado de alcohol. Los niveles de fibrinógeno aumentan crónicamente en presencia de factores de riesgo vascular, y de manera aguda en respuesta a lesiones, cirugía, infecciones e infartos. También es el principal cofactor en la agregación plaquetaria mediante la unión a su receptor en la superficie de las plaquetas, la glucoproteína IIb/IIIa. Diversos estudios entre los que destacan el Scottish Heart Health Study, el Nortwick Park Heart Study, el Caerphilly and Speedwell Collaborative Heart Disease Study y el estudio de Goteborg, han mostrado que el fibrinógeno se asocia con la cardiopatía isquémica de la misma manera que los niveles de colesterol, y que también está elevado en pacientes con ictus isquémico y con enfermedad arterial periférica. Varios estudios prospectivos han confirmado que el fibrinógeno es un factor de riesgo primario de enfermedad cardiovascular en individuos considerados sanos. Los niveles elevados predisponen a eventos fatales y no fatales. Así, los individuos con niveles en el tercio superior de la distribución tenían más riesgo de problemas cardiovasculares que los del tercio inferior. El incremento de fibrinógeno parece aumentar el riesgo de manera sinérgica con los niveles de colesterol-LDL y la presión arterial. Además, la hipertensión y la hipercolesterolemia sólo comportaron riesgo de cardiopatía isquémica si el fibrinógeno estaba elevado. En pacientes que ya han sufrido problemas cardiovasculares, los niveles elevados son indicativos de un incremento de la mortalidad y de las recurrencias. Así, también puede considerarse como un factor de riesgo pronóstico. No obstante, no está muy claro el porqué el fibrinógeno puede comportarse como un factor de riesgo. La hipofibrinólisis se cree que es un importante mecanismo en la formación y la progresión de la enfermedad aterotrombótica. Los niveles elevados de PAI-1 se han implicado como posibles causantes de hipofibrinólisis, pero no existe consenso en este punto. Recientemente, se está trabajando en identificar los factores que pueden intervenir en la arquitectura del trombo, ya que se han identificado trombos con diferente «porosidad» hacia los factores que intervienen en la fibrinólisis, lo que podría condicionar la resistencia del trombo a la degradación. No obstante, el papel del fibrinógeno como factor causal de aterosclerosis no ha sido probado, mientras que los resultados estadísticos afirman de manera consistente su papel como factor de riesgo. El fibrinógeno aumenta en la infección y en la inflamación, por lo que el estado inflamatorio que acompaña a la aterosclerosis puede ser responsable del aumento de los niveles de fibrinógeno. Entonces, su elevación sería causa y no consecuencia.

Resumiendo, la aterosclerosis puede contemplarse como una enfermedad compleja en la que genes polimórficos que actúan como *modificadores* de la respuesta en situaciones de riesgo ambientales (dieta, tabaco, ejercicio) o en situaciones de riesgo fisiopatológicas. Las interacciones entre genotipo y fenotipo son complejas como consecuencia de la pleiotropía (un gen puede influir en diversos fenotipos), la variación con la edad, la selección por la letalidad de la enfermedad y las interacciones entre los genes y el ambiente.

Patogenia de la enfermedad tromboembólica venosa[24]

La enfermedad tromboembólica venosa es multifactorial. Está favorecida por la estasis sanguínea, por factores vasculares y por alteraciones de la sangre que se conocen como hipercoagulabilidad o estado pretrombótico. Estos tres factores se conocen clásicamente como tríada de Vinchow. Los trombos venosos son depósitos intravasculares compuestos predominantemente por fibrina y hematíes, con una participación variable de leucocitos y plaquetas. Los trombos venosos suelen formarse en zonas de flujo lento o alterado, y suelen tener su origen en pequeños depósitos en los senos de las válvulas venosas de las venas profundas de las pantorrillas y del muslo, o bien en segmentos venosos expuestos directamente a un traumatismo. La ralentización del flujo no es un factor suficiente para que se desarrolle una trombosis. *In vivo*, puede iniciarse la activación de la coagulación en diferentes momentos del proceso. La vía intrínseca puede iniciarse por el contacto del factor XII con el colágeno del subendotelio de los vasos sanguíneos lesionados. También puede iniciarse tras la activación de las plaquetas unidas al subendotelio. La vía extrínseca puede iniciarse después de la liberación de factor tisular al torrente vascular desde el foco de la lesión, o también por la exposición en la zona de la lesión como resultado del daño tisular, la activación endotelial y de los leucocitos que migran a la zona de la lesión. Por esta vía puede producirse trombosis en pacientes quemados, politraumatizados o con otras formas de necrosis tisular. El factor X puede activarse también directamente a partir de células malignas que contienen una cisteín-proteasa. Aunque la trombosis venosa no suele producirse por alteraciones tan notables de la pared vascular como las que se producen en la trombosis arterial, en algunas situaciones se ha demostrado un papel importante de la lesión vascular, como la que ocurre en las fracturas de cadera, la cirugía de cadera y rodilla, por lesión directa, torsión o la utilización de los manguitos de isquemia en la cirugía ortopédica. También pueden consi-

derarse como secundarias a lesiones de la pared la trombosis del sistema venoso yugulo-axilo-subclavio que se presenta en pacientes jóvenes como secundaria al esfuerzo o a movimientos repetitivos.

ESTADOS DE RIESGO TROMBÓTICO

Las situaciones de riesgo trombótico pueden considerarse similares en el territorio arterial y venoso. La mayor diferencia entre ambas se debe a que en la trombosis arterial son muy importantes los factores de riesgo de aterosclerosis (hipertensión, diabetes, tabaquismo e hipercolesterolemia) que no afectan, de manera clara, al riesgo de trombosis venosas. De manera didáctica, pueden destacarse las situaciones de riesgo trombótico en primarias, que hoy día pueden denominarse con el término de *trombofilia*, y secundarias, que suelen producirse asociadas con diversos estados patológicos adquiridos.

Trombofilia[25]

De manera general, puede definirse la trombofilia como la predisposición individual a padecer episodios tromboembólicos, y en sentido amplio, que afectan al territorio venoso o arterial. Las alteraciones predisponentes no causan enfermedad de manera continua sino que debilitan la capacidad de hacer frente a fluctuaciones inducidas por interacciones con el ambiente. Clásicamente, se consideraba que los pacientes con trombofilia iniciaban los problemas trombóticos en edad joven, presentaban frecuentes recurrencias, con historia familiar importante, la trombosis aparecía en localizaciones poco habituales y presentaban una gravedad desproporcionada al estímulo causal. Existen pacientes en los que la clínica es muy agresiva, y sin tratamiento, sufren múltiples episodios, pero lo más frecuente es que la clínica sea episódica, con largos períodos libres de síntomas. Esta discontinuidad sugiere que hay algún estímulo desencadenante de cada episodio, bien directo o que causa una disminución de la resistencia antitrombótica intrínseca del individuo, o combinación de ambas situaciones. El término trombofilia hereditaria reconoce la presencia de factores hereditarios que, por sí solos, predisponen hacia la trombosis, pero que, debido a la naturaleza episódica de la trombosis, requieren interacción con otros componentes (hereditarios o adquiridos) antes de la presentación clínica de la enfermedad (v. fig. 37.1). Por tanto, la definición más completa de trombofilia hereditaria puede formularse así: *La trombofilia hereditaria es una tendencia hacia el tromboembolismo genéticamente determinada. Anomalías dominantes o combinaciones de defectos menos importantes pueden ser clínicamente aparentes desde edades tempranas, recurren con frecuencia y suele existir historia familiar.*

Los factores genéticos identificados como claros causantes de trombofilia se refieren a continuación y se resumen en la tabla 37.1.

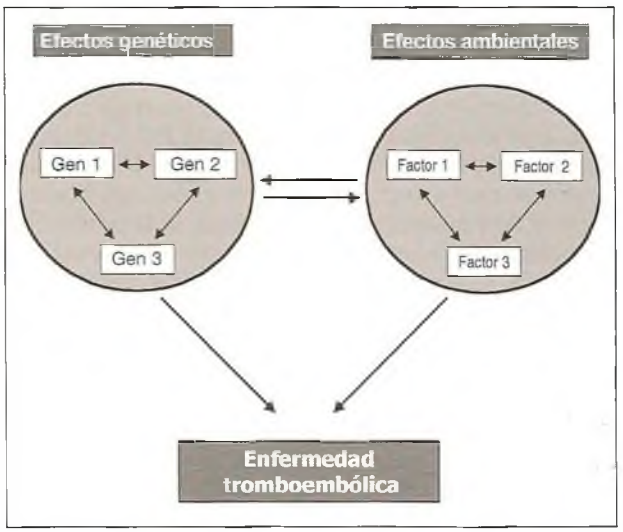


Figura 37.1. La trombosis puede considerarse como una enfermedad compleja: la interacción de diversos genes entre sí, de factores ambientales entre sí, y de los genes con el ambiente, condicionan el fenotipo. En este caso, la enfermedad tromboembólica.

Deficiencia de antitrombina[26]

La antitrombina es una glucoproteína plasmática de 58 kDa, de síntesis hepática, que es el principal inhibidor de la trombina y de los factores Xa, IXa y XIa, mediante la formación de un complejo irreversible. El déficit es poco frecuente en nuestro medio[27]: aproximadamente el 0,5% de los pacientes con trombosis. La herencia es autosómica dominante, y los heterocigotos tienen niveles de alrededor de la mitad de lo normal. No se conocen homocigotos, por lo que se asume que son incompatibles con la vida. Clínicamente, produce trombosis en edades tempranas de la vida. A los 25-35 años, el 50% de los afectados han presentado algún episodio de trombosis. Se estima un riesgo de unas 50 veces superior a los individuos sin déficit. Las situaciones que por sí presentan riesgo trombótico, como la cirugía, el embarazo, la ingestión de anticonceptivos orales, u otras, son especialmente peligrosas en los pacientes con deficiencia de antitrombina. Con cierta frecuencia, las complicaciones tromboembólicas pueden ser fatales (embolia pulmonar masiva, trombosis venosa mesentérica, etc.). Raramente, pueden presentarse trombosis arteriales.

El déficit puede ser de dos tipos: tipo I, en el que la proteína está disminuida pero es normofuncionante (es el más frecuente), y tipo II, en el que la proteína se halla en cantidad normal, pero es disfuncional. El tipo II se subdivide en IIa (alteración del centro activo y de la zona de unión a la heparina), IIb (alteración del centro activo) o IIc (alteración del centro de unión a la heparina). Este último tipo no suele cursar con trombosis. Puede haber deficiencias adquiridas por defecto de síntesis (insuficiencia hepática), o por pérdidas excesivas (síndrome nefrótico, enteropatías pierde-proteínas). Dado que las heparinas actúan potenciando el efecto inhibidor de la antitrombina, es posible que en pacientes deficientes se presente resistencia a las heparinas. En estos casos, está indicada la administración de concentrados de antitrombina en las situaciones de riesgo trombótico.

Deficiencia de proteína C[28-30]

La proteína C es una glucoproteína plasmática de 62 kDa, de síntesis hepática dependiente de la vitamina K. Es la precursora de la proteína C activada. La activación de la proteína C se produce tras la unión de la trombina a la trombomodulina. Así, la trombina pierde su efecto procoagulante, y se consti-

TABLA 37.1

Causas de trombofilia hereditaria, establecidas o posibles

Hereditarias		
Déficit de antitrombina	Déficit de proteína C	Déficit de proteína S
Resistencia a la PCa/factor V Leiden	Mutación G20210A del gen de la protrombina	Disfibrinogenemia
Grupo sanguíneo no-O (A_1)	Mutación C46T del gen del factor XII	Alteraciones en la trombomodulina, EPCR, etc.
Adquiridas/hereditarias (la contribución relativa precisa no está establecida)		
Hiperhomocisteinemia	Elevación del factor VIII	Elevación del fibrinógeno
Potencialmente hereditarias (no evidencias concluyentes)		
Déficit de plasminógeno	Déficit del cofactor II de la heparina	Aumento de HRG
Deficiencia de t-PA, u-PA	Aumento de PAI-1	Disminución de TFPI
Hiperhomocisteinemia	Elevación del factor VIII	Elevación del fibrinógeno

EPCR: receptor específico de la proteína C activada; PCa: proteína C activada.

tuye en el paso inicial de activación de la vía de la proteína C. La proteína C activada es responsable de la inactivación de los factores Va y VIIIa. Para ello requiere la unión a la proteína S. Esta reacción se produce en la superficie de las plaquetas y en el endotelio. En éste hay un receptor específico de la proteína C activada, el EPCR, que aumenta su eficiencia. El déficit de proteína C se hereda de forma autosómica dominante. Los pacientes heterocigotos muestran tendencia a presentar trombofilia fundamentalmente venosa. Los homocigotos son muy poco frecuentes y presentan una clínica trombótica muy grave, la *purpura fulminans* neonatal, en la que se produce trombosis de vasos de mediano y pequeño calibre, con necrosis cutánea. Los pacientes suelen mostrar ceguera y hemorragias cerebrales al nacer. El cuadro se trata con concentrado de proteína C humana plasmática. Puede iniciarse el tratamiento con plasma fresco congelado hasta que se disponga de los concentrados. Es un cuadro grave, urgente y que requiere un alto índice de sospecha. En nuestro medio, la frecuencia del déficit heterocigoto es de alrededor del 3,2% de los pacientes con trombosis[27]. La mayoría son deficiencias tipo I, con proteína normal pero disminuida, aunque hay casos con nivel de proteína normal pero disfuncionante (déficit tipo II). La edad media de presentación oscila entre 40-50 años. Se considera que el riesgo de trombosis es de unas 8-10 veces superior al de los individuos sin déficit. Además de la clínica trombótica más usual, como peculiaridades clínicas de esta deficiencia puede destacarse la mayor frecuencia de trombosis durante el puerperio[31], y que al iniciar el tratamiento con antivitaminas K se puede producir un cuadro de necrosis cutánea debido a que en los primeros dos días se provoca un estado de hipercoagulabilidad por descenso brusco de los niveles de proteína C y S, mientras que el descenso de la protrombina (el más tardío) se produce hacia el 3.er-5.º día. Estos individuos también muestran un mayor riesgo de recidiva trombótica en los cambios de heparina a antivitaminas K.

Proteína S[32,33]

La proteína S es una glucoproteína plasmática de 70 kDa, sintetizada en el hígado, en el endotelio, en los megacariocitos y células de Leydig testiculares. La vitamina K también es necesaria para su síntesis correcta. Es cofactor de la proteína C activada en la degradación de los factores Va y VIIIa. Circula libre en plasma (40%) o unida al C4bBP (60%). La PS libre es la forma activa. Se cree que también podría producir una inhibición directa del complejo Xasa (IXa-VIIIa) y protrombinasa (Xa-Va), independiente de la unión al C4bBP. Las deficiencias de proteína S se clasifican en tipo I (disminución de proteína S total, libre y funcional), tipo II (alteración funcional) y tipo III (proteína S total normal y libre y funcional disminuidas). El déficit tipo II, en realidad, no corresponde a alteraciones en la proteína S sino al fenómeno plasmático denominado resistencia a la proteína C activada, causado mayoritariamente por una mutación del factor V denominada factor V Leiden, o por la presencia de anticoagulante lúpico. En nuestro medio, la frecuencia del déficit, teniendo en cuenta los déficit tipo I y III es del 7,3%. La edad en la que suele presentarse la primera trombosis es menor en el tipo I (entre 30-35 años) que en el tipo III (50-55 años). La estimación del riesgo trombótico no está bien establecida. Como peculiaridades clínicas, comparte con la deficiencia en proteína C una mayor tendencia a producir trombosis en el puerperio y un mayor riesgo de favorecer la necrosis cutánea por cumarínicos. Los pacientes con deficiencia de esta proteína también tienen mayor riesgo de recidiva de trombosis en los cambios de heparina a anticoagulantes orales. Aunque con menor frecuencia que en el déficit de proteína C homocigoto, se han descrito deficiencias homocigotas de proteína S que cursan con *purpura fulminans* neonatal.

Mutación del factor V de Leiden[34-36]

El factor V es una glucoproteína plasmática de 300 kDa, de síntesis hepática. Se activa por la trombina, y es el cofactor del factor Xa en el complejo protrombinasa (Xa-Va). La proteína C activada inactiva el factor Va en las Arg 506, 306 y 679. En 1994, se descubrió que la mutación puntual en 1.691 G → A produce una variante del factor V en el que la arginina 506 está sustituida por una glutamina. Esto hace que sea más resistente a la degradación por la proteína C activada. Esta mutación es responsable del hallazgo plasmático de resistencia a la proteína C activada. El riesgo trombótico en estos pacientes se estima que es 7 veces superior en los heterocigotos que en individuos sin mutación, y en los homocigotos, 10 veces más que en los heterocigotos. Como peculia-

ridad clínica destaca que está relacionada con un mayor riesgo de trombosis asociada con el uso de anticonceptivos orales (unas 30 veces más riesgo). También podría existir una incidencia de embolia pulmonar secundaria a trombosis venosa profunda mayor de la esperada. La prevalencia de la mutación del factor V Leiden en la población general es del 3,0%. En pacientes con trombosis es de alrededor del 12,8%[37]. La edad de aparición de la primera trombosis suele ser alrededor de los 35-40 años.

Existen otras dos mutaciones en el mismo gen que causan el cambio de la arginina 306 por glutamina. Son las mutaciones factor V Cambridge y Hong Kong. También producen resistencia a la proteína C activada, aunque su papel en la trombofilia no está bien establecido, ya que son muy poco frecuentes. La resistencia a la proteína C activada puede observarse de manera adquirida en individuos con niveles altos de factor VIII, pacientes con anticoagulante lúpico y mujeres embarazadas.

Mutación G20210A del gen de la protrombina[38]

La transición G → A en la posición 20210 (último nucleótido de la región 3'UT) produce una variante en la zona del promotor del gen de la protrombina que no ocasiona ninguna alteración estructural de la molécula de protrombina, aunque provoca que sus niveles en plasma sean superiores. La frecuencia de este polimorfismo dialélico en pacientes con trombosis oscila entre el 6,2 y el 17,2% que encontramos en nuestro medio[38,39]. En controles sanos, la prevalencia de esta mutación en nuestro medio es del 6,2%[39]. Debido a su frecuencia, los homocigotos son relativamente comunes[40]. La clínica no se diferencia demasiado de otras alteraciones. La edad de presentación suele ser entre 45-50 años. El riesgo de trombosis se calcula entre 2 y 3 veces superior a los no afectados. Como peculiaridades clínicas cabe destacar una mayor prevalencia de la esperada en pacientes con trombosis de los senos venosos intracraneales, y también un mayor riesgo de trombosis relacionada con los anticonceptivos orales[41,42].

El mecanismo por el que esta variante alélica produce un incremento de riesgo trombótico no se conoce, aunque en modelos de coagulación *ex vivo* se ha demostrado una mayor generación de trombina a medida que se aumenta la concentración de protrombina, y estos pacientes muestran valores más elevados de protrombina en plasma.

Mutación C46T en el gen del factor XII

El factor XII es una serín-proteasa del sistema de contacto que desempeña un papel en los sistemas de coagulación y fibrinólisis. La función del factor XII es controvertida, ya que si bien su deficiencia causa un alargamiento asintomático del APTT, en pacientes con deficiencia se han comunicado problemas trombóticos. Debido a que el polimorfismo C46T en el gen del factor XII influye en los niveles plasmáticos del factor XII, se ha estudiado su papel en pacientes con trombosis venosas. En un estudio se observó que la prevalencia de homocigotos T/T en la población control fue del 2,0%, y en pacientes, del 6,0%, con un incremento en el riesgo de trombosis venosa (OR 4,82; 95% IC 1,5-15,6).

Aumento de factor VIII

El factor VIII es un importante cofactor en la activación del factor X. Su deficiencia produce la hemofilia A, una grave enfermedad hemorrágica. Los niveles elevados de factor VIII se han asociado con el incremento del riesgo de trombosis venosa[43,44]. Los pacientes con niveles por encima del percentil 90 de la población normal muestran un incremento del riesgo de trombosis entre 3-5 veces. También el riesgo de recurrencias está incrementado en pacientes con niveles elevados de factor VIII[44,45]. Los niveles de factor VIII suelen ser estables en el tiempo, y hoy día se acepta que puede subyacer una base genética. En algunos pacientes, pueden aumentar de manera adquirida (enfermedades inflamatorias, hepatopatías, embarazo).

Grupo sanguíneo ABO

Los grupos sanguíneos del sistema ABO se han relacionado con el riesgo cardiovascular desde hace más de 20 años. Se había relacionado este incremento de riesgo con el incremento de factor VIII y factor Von Willebrand. En recientes estudios se ha observado que los individuos con grupos sanguíneo no-O presentan un aumento de riesgo de trombosis de 2,6 veces respecto al grupo O. Probablemente sea el alelo A_1 el responsable de este incremento de riesgo[44]. Este riesgo incrementado es independiente de los niveles de factor VIII y de factor Von Willebrand.

Alteraciones combinadas

Las deficiencias de antitrombina, proteína C o S son relativamente infrecuentes, aunque la alta prevalencia de las mutaciones recientemente identificadas hacen que la posibilidad de encontrar defectos combinados no sea baja. Los pacientes con alteraciones combinadas muestran una clínica más precoz y más grave[46-48]. Es previsible que en los próximos años aparezcan más alteraciones causantes de trombofilia, por lo que la asociación de más de una alteración en un mismo paciente será un hecho cada vez más frecuente. Esta idea abunda en la reciente visión de la trombofilia como una enfermedad compleja multifactorial, determinada por una base poligénica, por el ambiente y por la interacción entre ambos.

Otros candidatos[25]

Un gran número de alteraciones genéticas han sido implicadas en el riesgo de trombosis en familias con trombofilia. En la mayoría de los casos, corresponden a observaciones aisladas. La disfibrinogenemia, que suele ser asintomática, en raras ocasiones produce manifestaciones hemorrágicas, y algunas veces se ha asociado con trombosis arterial o venosa. La herencia puede ser recesiva o dominante. La relación entre el defecto de la molécula de fibrinógeno y la trombofilia no está bien establecida. Se ha postulado una mayor resistencia a la fibrinólisis de la fibrina formada a partir de estos fibrinógenos. En todo caso, su prevalencia es muy baja en la población trombótica (0,1-0,8%).

Como componente de la vía de la proteína C, la trombomodulina es otra proteína candidata a presentar alteraciones causantes de trombofilia[49]. Al ser una membrana unida al endotelio, aunque puede medirse en plasma en situaciones de lesión endotelial, hoy día el único abordaje es el estudio genético. Aunque existen mutaciones en el gen de la trombomodulina, no está muy claro su papel en la trombofilia y, en todo caso, son muy poco frecuentes.

Era conocido que la hiperhomocisteinemia grave que presentaban los niños con hiperhomocistinuria cursaba con trombosis arteriales y venosas de manera precoz. Recientemente, la hiperhomocisteinemia moderada se ha encontrado con mayor

frecuencia en pacientes con trombosis, con frecuencias que oscilan entre el 10-16%[50,51]. Las alteraciones enzimáticas implicadas en la hiperhomocisteinemia grave son la deficiencia cistationina-β sintetasa y la deficiencia homocigota de la metilentetrahidrofolato reductasa. Recientemente, se ha identificado una mutación, la C677T, que causaría una forma termolábil de la metilentetrahidrofolato reductasa, que sería responsable, en su forma homocigota (T/T), de la mayoría de los casos con hiperhomocisteinemia moderada.

Las alteraciones del plasminógeno, cuantitativas o cualitativas, se han observado asociadas de manera aislada con trombofilia. Sin embargo, en muchas ocasiones sólo el probando sufre clínica sin que otros miembros estén afectados. No queda claro que estas alteraciones desempeñen un papel en la trombofilia. También se ha estudiado, sin llegar a conclusiones claras, el papel de los niveles elevados de glucoproteína rica en histidina (HRG) como causante de trombofilia al causar la disminución de los niveles de plasminógeno. Otra alteración candidata sería la deficiencia del inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI)[52]. Aunque no se han encontrado mutaciones en este gen en familias con trombofilia, se ha comunicado una familia en la que dos hermanos presentaban niveles disminuidos de TFPI y marcada clínica trombótica[52]. También se ha explorado la deficiencia de cofactor-II de la heparina y la deficiencia de β_2-glucoproteína-I, sin llegar a resultados concluyentes.

Recientemente, se han identificado polimorfismos del gen del factor XIII que podrían tener un papel protector, al producir un factor XIIIa con una menor eficiencia catalítica. Existe algún estudio en el que se sugiere que los niveles elevados de factor XI[53] y de factor IX producen un incremento del riesgo de trombosis. La base genética de estos fenotipos y los defectos moleculares subyacentes están por conocer.

Trombofilia adquirida

Anticuerpos antifosfolípido[54]

Los anticuerpos antifosfolípidos constituyen un heterogéneo grupo de autoanticuerpos dirigidos contra estructuras fosfolipídicas unidas a determinadas proteínas. Los anticuerpos más implicados en la trombofilia son las anticardiolipinas y las antifosfatidilserinas. Las proteínas que participan son, en algunos casos, la propia protrombina, y en otros, la β_2-glucoproteína-I. En ocasiones, la presencia de los anticuerpos antifosfolípidos es capaz de prolongar *in vitro* los tiempos de coagulación, en especial el tiempo de tromboplastina parcial activado, aunque en ocasiones también pueden prolongar el tiempo de protrombina. Cuando se produce este fenómeno se habla de anticoagulante lúpico, porque inicialmente se identificó en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES). Los anticuerpos antifosfolípidos pueden aparecer de manera aislada o asociados a otras entidades, como enfermedades autoinmunes (lupus, artritis reumatoide), infecciones, pueden ser inducidos por fármacos, etc.

Clínicamente, los pacientes con anticuerpos antifosfolípidos presentan un riesgo incrementado de trombosis. Se han encontrado positivos en el 4,18% de pacientes con trombosis venosa[27]. En el caso de que, además, se asocie trombocitopenia autoinmune, *livedo reticularis* o pérdidas fetales de repetición, se habla de síndrome antifosfolípido primario si no se asocia con ninguna enfermedad subyacente, o secundario, en caso de que exista esta asociación.

Muy raramente, los anticoagulantes lúpicos presentan cierta especificidad hacia un factor, y se comportan clínicamente como inhibidores de la coagulación. Se han descrito casos de anticoagulantes lúpicos con especificidad contra los factores VIII, IX, X y II, que cursan con hemorragia, y en alguna ocasión se han descrito alteraciones de la función plaquetaria.

Situaciones clínicas secundarias

En determinadas situaciones clínicas existe un riesgo de trombosis (tabla 37.2). En estas situaciones se producen cambios biológicos relacionados con la inflamación y las respuestas inflamatorias de fase aguda, que motivan un desequilibrio entre los mecanismos antitrombóticos y los protrombóticos. La liberación de factor tisular durante el trauma, la cirugía, la liberación de citocinas proinflamatorias (IL-1 y TNF) durante la infección, las alteraciones vasomotoras en los ictus isquémicos, etc., provocan la estimulación de las reacciones procoagulantes. El fibrinógeno aumenta en las enfermedades crónicas, inflamatorias, neoplasias y el potencial fibrinolítico disminuye por un aumento de PAI-1 y de la HRG que reduce los niveles de plasminógeno, y también disminuyen los niveles de proteína S.

TABLA 37.2

Situaciones de riesgo trombótico adquiridas

Disminución adquirida de antitrombina
Síndrome nefrótico, enteropatías pierde-proteínas, hepatopatías
Resistencia adquirida a la proteína C activada
Aumento de factor VIII, anticoagulante lúpico, embarazo
Anticuerpos antifosfolipídicos, anticoagulante lúpico
Alteraciones de la fibrinólisis
Aumento de PAI-1, aumento de HRG
Neoplasias
Embarazo y puerperio
Anticonceptivos hormonales
Tamoxifeno
Hemoglobinuria paroxística nocturna
Anemia drepanocítica
Diabetes mellitus
Trombocitopenia inducida por heparina
Prótesis valvulares y vasculares artificiales
Vasculitis
Inmovilización
Infecciones
Estados inflamatorios (enfermedad inflamatoria intestinal)
Enfermedades crónicas (enfermedad de Behçet, conectivopatías)
Edad avanzada
Cirugía ortopédica, general, urológica, ginecológica, oncológica, etc.
Obesidad
Síndromes de hiperviscosidad (policitemias, mieloma, leucosis)

Durante el embarazo, se producen cambios fisiológicos dirigidos a prevenir la hemorragia posparto. No obstante, estos cambios predisponen a complicaciones trombóticas. Así, hay un incremento de factor VIII, fibrinógeno, de la resistencia a la proteína C activada y una disminución de la proteína S. Además, la placenta es muy rica en factor tisular, factor XIII y PAI.

Adicionalmente, estas situaciones clínicas adquiridas pueden concurrir en pacientes con una base genética que favorezca la trombosis. En este caso, el riesgo trombótico es mayor.

Investigación biológica de la trombofilia

A la vista de los conocimientos actuales, la evaluación biológica de un paciente con trombofilia debe contemplar, como mínimo, la determinación de las proteínas anticoagulantes naturales, es decir: proteína C, proteína S total y libre, antitrombina, detección de las mutaciones factor V Leiden y G20210A del gen de la protrombina, detección de anticuerpos antifosfolípidos, y determinación de homocisteína. Debido a los recientes hallazgos, también es recomendable medir el factor VIII que, en caso de mostrar niveles muy altos, predispone a la recurrencia del proceso trombótico[44]. Otra determinación genética útil puede ser la de la mutación C46T del gen del factor XII, y está por establecer el papel clínico de la detección del alelo A_1 del sistema ABO.

La probabilidad de encontrar nuevas proteínas implicadas en la hemostasia que puedan ser estudiadas en el plasma es baja; en cambio, hay que esperar en un futuro cercano que se incorporen nuevas alteraciones genéticas implicadas en trombofilia, tanto en la evaluación de pacientes con trombofilia inexplicada como en la estratificación del riesgo de los pacientes con defectos genéticos ya conocidos, pues es bien conocido que existen pacientes con los mismos defectos trombofílicos, pero con diversa expresión clínica.

Terapéutica antitrombótica en los estados de trombofilia

Generalidades

El tratamiento de los episodios tromboembólicos en los pacientes con trombofilia no difiere esencialmente del tratamiento estándar aplicable a cada episodio. Es decir, el fármaco de elección hoy día para el tratamiento de la enfermedad tromboembólica venosa aguda es la heparina o las heparinas de bajo peso molecular, seguido de anticoagulantes orales. La duración del tratamiento no está bien establecida, aunque recientemente hay tendencia a mantener la anticoagulación durante más tiempo (mínimo, 6 meses)[55], en caso de que se produzcan sin causa desencadenante o que la situación desencadenante persista. Recientes estudios sugieren el beneficio de tratamientos más prolongados[56], aunque no hay datos definitivos acerca de la duración óptima.

Tanto en pacientes sin defecto biológico comprobado como en los que lo presentan, la postura más extendida en caso de enfermedad recurrente es realizar tratamiento anticoagulante profiláctico indefinido, con antagonistas de la vitamina K, manteniendo un INR diana entre 2 y 3[55]. En el caso de estos pacientes con recurrencias se asume que existe una trombofilia *de facto* y se recomienda el tratamiento a largo plazo para prevenir recidivas.

Particularidades

Aunque este esquema general es aplicable a la mayoría de las alteraciones, existen las siguientes peculiaridades:

Déficit de antitrombina

Las heparinas actúan potenciando el efecto anticoagulante natural de la antitrombina sobre la protrombina y el factor Xa, principalmente. Dado que los pacientes con déficit pueden presentar resistencia biológica o clínica al tratamiento con heparina, se recomienda la administración de concentrados de antitrombina mientras reciban heparina. Es conveniente ajustar la dosis para mantener unos niveles de antitrombina funcional por encima del 80%. En la práctica se suele empezar con una dosis de 50 UI/kg, seguida de unas 1.000 UI cada 24-48 horas. El déficit de antitrombina es el que produce mayor riesgo de trombosis y, probablemente, mayor mortalidad por tromboembolismo pulmonar en edad joven, por lo que la postura más recomendada es realizar profilaxis con anticoagulantes orales indefinidamente (INR 2-3) a partir del primer episodio.

Déficit de proteína C o S heterocigotos

Tienen la peculiaridad clínica de presentar un riesgo elevado de recidiva trombótica durante el paso a antagonistas de la vitamina K, por lo que deben iniciarse con dosis bajas, progresivamente crecientes y siempre solapando 4-5 días con heparina en dosis anticoagulantes, hasta que el INR esté en rango terapéutico.

Déficit de proteína C o S homocigotos

Son extraordinariamente raros, y suelen presentarse como un grave cuadro de *purpura fulminans* neonatal. En estos casos, debe administrarse plasma fresco congelado, de inmediato, y lo antes posible, concentrados de proteína C activada, en caso de déficit de proteína C homocigoto.

Hiperhomocisteinemia moderada

El tratamiento con vitamina B_6, B_{12} y ácido fólico normaliza los niveles plasmáticos de homocisteína. De momento, se aplica el esquema terapéutico general.

Anticuerpos antifosfolípidos

En el caso de que un paciente con anticuerpos antifosfolípidos presente trombosis, la conducta actual más extendida es realizar profilaxis antitrombótica con antagonistas de la vitamina K, indefinida a partir del primer episodio[57], por el alto riesgo de recidivas.

Profilaxis en situaciones de riesgo en pacientes con trombofilia

La presencia de trombofilia en un paciente o en un familiar asintomático implica que sean considerados de alto riesgo trombótico cuando están sometidos a cualquier situación de riesgo clásica (cirugía, encamamiento, embarazo, inmovilización de extremidades, etc.). Esto hace que deba extremarse la profilaxis antitrombótica en estos pacientes. Las pautas recomendadas, en general, son similares a las que se emplean en pacientes de alto riesgo, y los fármacos más empleados son las heparinas de bajo peso molecular, con posología de alto riesgo. La duración del tratamiento debe ser la misma que en el factor de riesgo. En caso de que el período sea largo, puede realizarse la profilaxis con anticoagulantes orales.

Trombofilia y embarazo

El embarazo y el puerperio son momentos en los que existe un alto riesgo trombótico en las pacientes con trombofilia[31,58,59]. No existen unas pautas universalmente aceptadas, aunque sí unas recomendaciones generales que siempre deben tenerse en cuenta. Es importante distinguir entre mujeres con antecedentes o sin antecedentes de trombosis.

Déficit congénitos de proteína C, proteína S tipo I o FV Leiden sin antecedentes personales de trombosis

Se recomienda profilaxis con heparina durante el último trimestre de gestación y durante el puerperio, heparina o anta-

gonistas de la vitamina K. Durante el parto y el posparto inmediato debe administrarse heparina en dosis profilácticas.

Déficit congénito de proteína S tipo III o anticuerpos antifosfolípidos y sin antecedentes personales de trombosis

Profilaxis el último mes de embarazo y primeras 6 semanas del puerperio, con heparina de bajo peso molecular en dosis profilácticas de alto riesgo.

Déficit congénitos de proteína S (todos), proteína C, FV Leiden o síndrome antifosfolipídico con antecedentes personales de trombosis

Se recomienda profilaxis durante todo el embarazo con heparina de bajo peso molecular en dosis terapéuticas. De la semana 16.ª a la 36.ª de gestación pueden administrarse cumarínicos, INR: 2-3, en caso de complicaciones durante el tratamiento con heparina, porque durante este período se consideran seguros para el feto. Durante el parto y en el posparto inmediato, debe administrarse heparina en dosis profilácticas, y durante 3 meses de puerperio, antagonistas de la vitamina K o heparina de bajo peso molecular. Los antagonistas de la vitamina K más utilizados en nuestro medio (acenocumarol y warfarina) no son excretados en la leche, por lo que no contraindican la lactancia materna. En las pacientes con síndrome antifosfolipídico se recomienda asociar ácido acetilsalicílico (AAS) 100-125 mg/día durante toda la gestación y hasta el momento del parto, con objeto de disminuir el riesgo de pérdida fetal.

Déficit de antitrombina independientemente de antecedentes personales de trombosis

Se recomiendan las pautas del apartado anterior, con heparina. En caso de resistencia a la heparina, o de trombosis, puede ser preciso administrar concentrados de antitrombina durante todo el embarazo. Durante el parto y el posparto inmediato, mientras esté recibiendo heparina, deben administrarse concentrados de antitrombina para garantizar niveles superiores al 80% (dosis inicial de 50 UI/kg, y después según controles, habitualmente 1.000 UI/ 48 h).

Portadoras de anticuerpos antifosfolipídicos, con antecedentes de pérdidas fetales y sin historia personal de tromboembolismo

Durante toda la gestación debe administrarse: ácido acetilsalicílico 100-125 mg/día y heparina de bajo peso molecular con posología de alto riesgo. Cuando sobrevenga el parto, se debe suspender el ácido acetilsalicílico, y mantener la heparina en dosis profilácticas durante 6 semanas.

Trombofilia y anticonceptivos

En los últimos años, se ha establecido una asociación entre el uso de anticonceptivos hormonales y enfermedad tromboembólica venosa[60], especialmente con los que contienen progestágenos de tercera generación (gestodeno, desogestrel, drospirenona). Se ha identificado que las mujeres con trombofilia[55], y especialmente las portadoras de la mutación factor V Leiden[56], muestran un riesgo elevado de trombosis relacionada con anticonceptivos hormonales. Asimismo, las portadoras de la mutación 20210A del gen de la protrombina, si toman anticonceptivos, también muestran una mayor tendencia a presentar trombosis[42]. La recomendación más extendida es desaconsejar su utilización en mujeres con trombofilia o con antecedentes de enfermedad tromboembólica y, en caso muy necesario, administrar anticonceptivos de segunda generación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hirsh J, Colman RW, Marder VJ, George JN, Clowes AW. Overview of thrombosis and its treatment. En: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Clowes AW, George JN (eds.). Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice. 4.ª ed. Philadelphia: Lippincott 2001; 1071-1084.
2. Baumgartner HR. The role of blood flow in platelet adhesion, fibrin deposition and formation of mural thrombi. Microvasc Res 1973; 5:167-179.
3. Collen D. On the regulation and control of fibrinolysis. Thromb Haemost 1980; 43:77-89.
4. Plow EF, Edgington TS. An alternative pathway of fibrinolysis. I. The cleavage of fibrinogen by leukocyte proteases at physiologic pH. J Clin Invest 1975; 56:30-38.
5. Cines DB, Pollak ES, Buck CA, et al. Endothelial Cells in Physiology and in the Pathophysiology of Vascular Disorders. Blood 1998; 91:3527-3561.
6. Ogawa S, Gerlach H, Esposito C, Pasagian-Macaulay A, Brett J, Stern D. Hypoxia modulates the barrier and coagulant function of cultured bovine endothelium. Increased monolayer permeability and induction of procoagulant properties. J Clin Invest 1990; 85:1090-1098.
7. Cines DB, Tomaski A, Tannenbaum S. Immune endothelial-cell injury in heparin-associated thrombocytopenia. N Engl J Med 1987; 316:581-589.
8. Libby P, Simon DI. Thrombosis and atherosclerosis. En: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Clowes AW, George JN (eds.). Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice. 4.ª ed. Philadelphia: Lippincott 2001; 743-752.
9. Colman RW, Cook JJ, Niewiarowski S. Mechanisms of platelet aggregation. En: Colman WC, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds.). Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice. 3.ª ed. Philadelphia: Lippincott Co 1994; 508-524.
10. Furie B, Furie BC. Molecular and cellular biology of blood coagulation. N Engl J Med 1992; 326:800-806.
11. Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. N Engl J Med 2002; 347:1557-1565.
12. Weiss EJ, Bray PF, Tayback M, et al. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. N Engl J Med 1996; 334:1090-1094.
13. Ridker PM, Hennekens CH, Schmitz C, Stampfer MJ, Lindpaintner K. PIA1/A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risks of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis. Lancet 1997; 349:385-388.
14. González-Conejero R, Lozano ML, Rivera J, Corral J, Iniesta JA, Moraleda JM, Vicente V. Polymorphisms of platelet membrane glycoprotein Ibβ associated with arterial thrombotic disease. Blood 1998; 92:2771-2776.
15. Iacovello L, Di Castelnuovo A, De Knijff P, et al. Polymorphisms in the coagulation factor VII gene and the risk of myocardial infarction N Engl J Med 1998; 338:79-85.
16. Rosendaal FR, Siscovick DS, Schwartz SM, et al. Factor V Leiden (resistance to activated protein C) increases the risk of myocardial infarction in young women. Blood 1997; 89:2817-2821.
17. Rosendaal FR, Siscovick DS, Schwartz SM, Psaty BM, Raghunathan TE, Vos HL. A common prothrombin variant (20210 G to A) increases the risk of myocardial infarction in young women. Blood 1997; 90:1747-1750.
18. Ireland H, Kunz G, Kyriakoulis K, Stubbs PJ, Lane DA. Thrombomodulin gene mutations associated with myocardial infarction. Circulation 1997; 96:15-18.
19. Norlund L, Holm J, Zoller B, Ohlin AK. A common thrombomodulin amino acid dimorphism is associated with myocardial infarction. Thromb Haemost 1997; 77:248-251.

CAPÍTULO 38

Terapéutica antitrombótica

F. Martínez Brotons

ÍNDICE

Inhibidores del funcionalismo plaquetario
- Antagonistas de la vía del tromboxano A_2
- Tienopiridinas
- Fármacos que incrementan la concentración plaquetaria de AMPc
- Antagonistas del receptor de la integrina $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GPIIb/IIIa)

Anticoagulantes
- Heparina no fraccionada (HNF) y heparinas de bajo peso molecular (HBPM)
- Pentasacáridos
- Anticoagulación oral con cumarínicos
- Inhibidores específicos de la trombina

Trombolíticos
- Trombolíticos de primera generación
- Trombolíticos de segunda generación
- Indicaciones de la terapéutica trombolítica
- Efectos adversos

Bibliografía

La medicación antitrombótica está destinada a prevenir los accidentes tromboembólicos en situaciones clínicas de riesgo conocido (prevención primaria), a evitar la recidiva, extensión y complicaciones del accidente trombótico ya desarrollado (prevención secundaria) o a eliminar el propio trombo para restablecer la permeabilidad vascular (trombólisis).

La medicación antitrombótica actúa sobre los componentes e inhibidores del sistema hemostático, potenciando o inhibiendo su función. De forma general, se distinguen tres mecanismos principales: *a*) por inhibición del funcionalismo plaquetario (medicación antiplaquetaria o antiagregante); *b*) por enlentecimiento del proceso de la coagulación (medicación anticoagulante), y c) por inducción de la lisis del trombo ya formado (medicación trombolítica).

INHIBIDORES DEL FUNCIONALISMO PLAQUETARIO

Su utilización está basada en el importante papel que desempeñan las plaquetas en la formación del trombo, especialmente en el territorio arterial. No debe olvidarse, no obstante, que no se dispone de prueba analítica alguna capaz de predecir el efecto clínico antitrombótico de estos fármacos. Los estudios *ex vivo* de las respuestas a diversos agentes en el agregómetro de Born o en dispositivos más modernos, como el Platelet Function Analyzer (PFA-100®), los niveles en sangre o la eliminación urinaria de metabolitos, como el tromboxano B_2, o incluso, la normalización de la vida media plaquetaria acortada, no son más que signos indirectos de una posible acción terapéutica. Sólo la evaluación mediante ensayos clínicos permite valorar la eficacia de cada producto en cada una de las indicaciones específicas, y no es lícito extrapolar los resultados de un fármaco a los restantes.

De acuerdo con su mecanismo de acción se distinguen cuatro grupos principales de fármacos: los antagonistas de la síntesis o de la acción del tromboxano A_2 (TXA_2); las tienopiridinas, que inhiben la agregación plaquetaria inducida por ADP; los que actúan incrementando la concentración intra-

plaquetaria de AMP cíclico (AMPc), y los antagonistas del complejo glucoproteico IIb-IIIa de la membrana plaquetaria (fig. 38.1, tablas 38.1 y 38.2).

Antagonistas de la vía del tromboxano A_2

Se incluyen, por una parte, los inhibidores de la actividad ciclooxigenasa plaquetaria, el principal de los cuales, por la experiencia disponible, es el ácido acetilsalicílico (AAS). Por otra, están los inhibidores de la tromboxano-sintasa y los antagonistas del receptor del tromboxano que carecen de momento de utilidad clínica.

Ácido acetilsalicílico

Actúa inhibiendo la reacción de liberación plaquetaria a través del bloqueo de la síntesis de TXA_2, mediante la acetilación irreversible de la prostaglandina-H-sintasa (PGHS) plaquetaria, lo que inhibe irreversiblemente su actividad ciclooxigenasa (COX). El objetivo de evitar la reacción de liberación es dificultar la formación del trombo y el paso al plasma de sustancias contenidas en los gránulos plaquetarios, como el factor de crecimiento derivado de la plaqueta, lo cual contribuiría a reducir la progresión y complicaciones del proceso aterogénico.

Existen dos isoformas de PGHS[1], conocidas como PGHS-1 y PGHS-2 o COX-1 y COX-2. La primera está presente en múltiples tipos celulares, incluidas las plaquetas, y es inhibida selectivamente por el AAS. La segunda no es detectable en muchos tejidos, pero es sintetizada rápidamente en respuesta a estímulos mitogénicos o inflamatorios y, aunque también es inhibida por el AAS, se requieren para ello concentraciones más elevadas de ésta, lo que podría explicar que el efecto antiagregante se pueda obtener a partir de dosis tan bajas como 50 mg/día, mientras que el efecto antiinflamatorio requiere dosis diarias de entre 2 y 4 g.

La enzima PGHS-1 transforma el ácido araquidónico en prostaglandinas PGG_2 y PGH_2. Esta última es transformada en la plaqueta en TXA_2, potente agente agregante y vasocons-

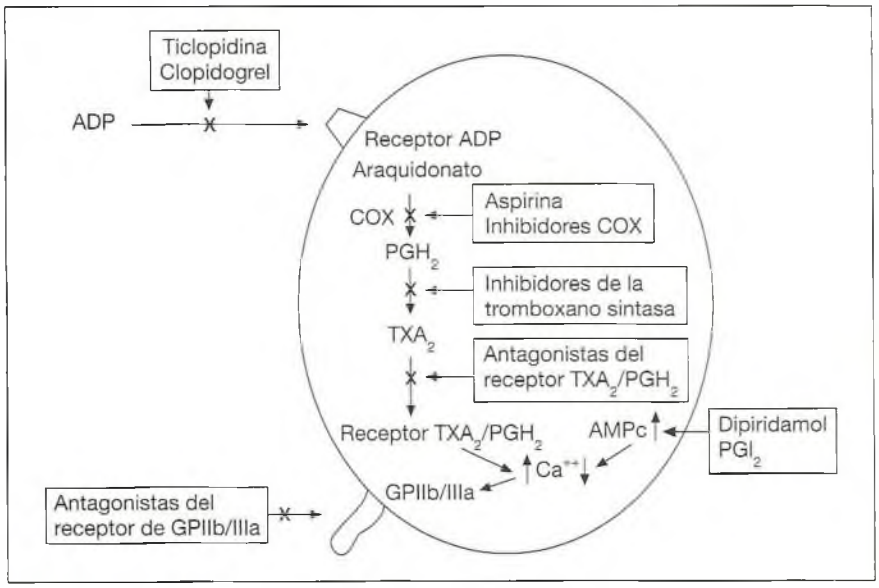


Figura 38.1. Mecanismo de acción de los diversos grupos de fármacos antiagregantes (v. texto).

TABLA 38.1

Propiedades de los principales antiagregantes

Fármaco	Mecanismo de acción	Duración del efecto tras supresión	Prolongación del tiempo de sangría
Aspirina	Bloqueo de PGHS-1 plaquetaria	5 a 7 días	Sí
Clopidogrel	Inhibe la agregación plaquetaria inducida por ADP	7 días	Sí
Dipiridamol	Incrementa la concentración intraplaquetaria de AMPc	24 horas	No
Abciximab	Anticuerpo monoclonal contra las glucoproteínas IIb-IIIa	24 a 48 horas (el tiempo de sangría se normaliza en 12 h)	Sí

TABLA 38.2

Indicaciones y posología de los principales antiagregantes

Fármaco	Indicaciones	Dosis mínimas recomendadas	Efectos adversos
Aspirina	IAM con elevación ST	160 mg/día	Sangrado gastrointestinal, úlcera gástrica, gastralgias
	Síndromes coronarios agudos sin elevación ST	75 mg/día	
	Ictus isquémico agudo	160 mg/día	
	Ictus prevención secundaria	30-300 mg/día	
	IAM prevención secundaria	75-160 mg/día	
	Endarterectomía carotídea	80-325 mg/día	
	Injerto coronario	325 mg/día	
Clopidogrel	Prevención de IAM, ictus y muerte vascular en pacientes de riesgo	Bolo: 300 mg (opcional) 75 mg/día	Con igual frecuencia de neutropenia y efectos adversos gastrointestinales que el AAS
	Intervencionismo coronario percutáneo		
	Síndromes coronarios agudos sin elevación ST		
	Arteriopatía periférica		
	Asociado a aspirina		
Dipiridamol	Prevención secundaria del ictus	200 mg/12 h asociado a AAS 50 mg/día	Cefalea
Abciximab	Intervencionismo coronario percutáneo	Bolo: 0,25 mg/kg + perfusión 10 mg/min × 12 h	Complicaciones hemorrágicas Trombocitopenia

trictor, mientras que en la célula endotelial da lugar a la prostaciclina o prostaglandina I_2 (PGI_2), con efectos opuestos, es decir, antiagregante y vasodilatador. El bloqueo de la PGHS-1 da lugar a una falta de síntesis de ambos metabolitos, que será total e irreversible en el caso del TXA_2 de la plaqueta, por ser ésta un elemento no nucleado incapaz de sintetizar la enzima. Por el contrario, la célula endotelial podría, al menos teóricamente, regenerar la enzima en ausencia de una dosificación alta y frecuente de AAS. Con objeto de obtener un bloqueo selectivo de la síntesis de TXA_2 sin afectar la de la PGI_2 se han buscado tanto la dosis mínima de AAS capaz de mostrar efecto antitrombótico como la vía de administración que minimice su biodisponibilidad sistémica.

El AAS se absorbe rápidamente en el estómago y en el intestino delgado, sufriendo una transformación parcial en salicilato, lo que da lugar a una biodisponibilidad del 40 al 50%, siendo evidente el efecto antiagregante en 1 hora, excepto si se utilizan cápsulas de absorción entérica, que requieren un mínimo de 3 horas. El objetivo de éstas es lograr la acetilación de la PGHS-1 plaquetaria en el nivel del sistema porta, evitando el efecto sobre otros endotelios mediante una biodisponibilidad sistémica muy baja.

De todos modos, aunque la necesidad de la PGI_2 parece evidente a través del modelo de ratón carente en el gen que codifica para este prostanoide, no está clínicamente establecido que las dosis capaces de suprimir su síntesis den lugar a trombosis o, por lo menos, a menor beneficio antitrombótico. Probablemente, con los regímenes de administración cada 24 horas en las dosis habituales se permite una síntesis satisfactoria de PGI_2, teniendo en cuenta que el AAS tiene una vida media en sangre de unos 15 minutos, debido a la rápida transformación en salicilato tanto en el plasma y en los eritrocitos como en el hígado y el pulmón.

Dosis entre 30 y 160 mg/día han mostrado claramente su acción antitrombótica en síndromes coronarios o cerebrales isquémicos, y no aumenta, en general, su eficacia aunque se incrementen 20 o 30 veces[2]. Se ha planteado cierta duda sobre la posibilidad de que las dosis elevadas (alrededor de 1 g/día) utilizadas en los primeros estudios sobre la prevención secundaria del ictus o en la endarterectomía carotídea fuesen más eficaces que las actuales dosis bajas. No existe ningún estudio comparativo que sostenga esta hipótesis, y sí una publicación en la que se obtuvieron mejores resultados con dosis bajas (80 o 325 mg/día) que con dosis altas (650 o 1.300 mg/día)[3].

Su administración se acompaña de una discreta prolongación del tiempo de sangría. El efecto antiagregante persiste mientras las plaquetas se hallen en la circulación, y su vida media es de 9 a 10 días. No obstante, cada día es reemplazado un 10% de las plaquetas circulantes, por lo que a los 5 días de suspender su administración, el 50% de ellas serán funcionalmente normales.

Entre los efectos adversos del AAS cabe citar la hemorragia, que no se presenta sin la existencia de un defecto hemostático predisponente, como hemofilia, enfermedad de Von Willebrand, uremia o tratamiento anticoagulante oral. Sus principales efectos secundarios son los gastrointestinales[4], especialmente el sangrado gástrico, secundario a la inhibición de prostaglandinas de la mucosa, que se previene con la administración de antagonistas H_2. Estos efectos indeseables sí son dependientes de la dosis, lo que representa un motivo más para la utilización de dosis bajas.

Desde el punto de vista clínico, la utilidad del AAS ha sido evaluada en numerosos estudios aleatorizados que abarcan todo tipo de patología tromboembólica, tanto en el territorio arterial como en el venoso, y en la prevención del embolismo sistémico de origen cardíaco.

En el tratamiento de accidentes agudos, dentro de la patología coronaria el punto más destacable es la reducción, altamente significativa, de la mortalidad (23%), de la recidiva de

infarto agudo de miocardio (IAM) (49%) y del ictus (46%), no mortales, en pacientes con IAM a los que se administró 162 mg de AAS en las primeras 24 horas del cuadro y diariamente durante 5 semanas[5]. Estos resultados, que se obtuvieron sin aumentar la incidencia de ictus hemorrágico ni las complicaciones gastrointestinales, han conducido a su administración a prácticamente todo paciente en la fase aguda del IAM. En la fase aguda del ictus isquémico tres estudios aleatorizados[6] han hallado un beneficio menor pero significativo con la administración de AAS, con reducción de los accidentes vasculares, mortales o no, en un 10%.

Su administración a largo plazo ha demostrado un claro beneficio en la prevención del IAM, del ictus y de la muerte en pacientes con factores de riesgo cardiovascular, como la existencia de angina estable o inestable, o de previo IAM o accidente isquémico transitorio (AIT). Este beneficio se cuantificaría en la prevención de un accidente vascular mayor en el 3,5% de los pacientes durante los 30 primeros meses de tratamiento, alcanzando hasta el 5% en el caso del angor inestable[7].

En cuanto a su utilización en la prevención primaria de la patología cardiovascular, tanto en individuos de bajo como de moderado riesgo o en hipertensos bien controlados, ha mostrado una reducción del IAM no mortal, pero sin modificar la incidencia del ictus ni de la mortalidad de causa cardiovascular, por lo que su beneficio neto es discutible si se tienen en cuenta los efectos adversos.

En pacientes con fibrilación auricular no valvular, el AAS reduce la incidencia de embolismo sistémico en un 25% con respecto al placebo, pero en menor medida que los cumarínicos (INR 2-3), que obtienen un beneficio adicional del 50%[8]. Por ello, la administración de AAS sólo está indicada en caso de contraindicación para la anticoagulación oral o en los grupos de pacientes jóvenes con muy bajo riesgo embólico.

Varios estudios aleatorizados, aunque de pequeño tamaño, han demostrado la escasa eficacia del AAS en la profilaxis de la enfermedad tromboembólica venosa (ETEV) en cirugía. Por el contrario, un metaanálisis que incluye más de 30 estudios de diversa calidad, con grupos de pacientes heterogéneos (Antiplatelet Trialists' Collaboration)[9], señala para el AAS una reducción de la incidencia de trombosis venosa profunda del 37%, lejos del 68% obtenido con la heparina no fraccionada en dosis bajas, pero con una reducción del tromboembolismo pulmonar similar a la obtenida con esta última. En general, se considera que su efecto profiláctico es menor que el de las heparinas.

Triflusal

Es un análogo del ácido acetilsalicílico que se distingue de éste por presentar un grupo fluorometilo (CF_3). Da lugar a una inhibición irreversible de la COX-1 plaquetaria durante su breve presencia en sangre, ya que es rápidamente eliminado después de su absorción, transformándose en un metabolito desacetilado que conserva una menor acción antiagregante y es un inhibidor reversible de la COX-1, con una vida media de unas 35 horas[10]. Tanto el triflusal como su metabolito son capaces de incrementar las concentraciones de AMPc plaquetario por inhibición de la fosfodiesterasa. Su principal ventaja es la de mantener el efecto antiagregante sin reducción significativa de la síntesis de PGI_2 y sin prolongación del tiempo de sangría. Desde el punto de vista clínico, la literatura disponible es escasa, pero cabe destacar que su administración después de un IAM redujo significativamente la incidencia de accidentes vasculares cerebrales con respecto al AAS, pero no los cardiovasculares, mortales o no[11]. Tampoco ha demostrado superioridad sobre el AAS en la prevención a largo plazo de accidentes vasculares, después de un ictus o un AIT[12]. En ambos estudios dio lugar a menor número de complicaciones hemorrágicas.

Antagonistas del receptor para TXA_2 /PGH_2

La estimulación de este receptor conduce a la activación de la fosfolipasa C de la plaqueta y al aumento de la concentración de Ca^{2+} en el citosol, con la consiguiente activación plaquetaria. Se han desarrollado potentes inhibidores del receptor, que no han dado resultados satisfactorios en estudios fase II/III, en parte por diseños inadecuados.

El ridogrel, un producto que, por lo menos teóricamente, combina las capacidades de inhibición de la TXA_2-sintasa y de bloqueo del receptor para el TXA_2, tampoco ha dado los resultados esperados en su valoración clínica. Sin embargo, persiste el interés por este tipo de fármacos, con recientes publicaciones sobre nuevos fármacos candidatos.

Tienopiridinas

Este grupo comprende la ticlopidina y el clopidogrel. Ambos inhiben selectivamente la agregación plaquetaria inducida por ADP, pero sólo *in vivo*, lo que hace suponer su transformación en metabolitos activos con capacidad para bloquear el receptor P_{2T} del ADP en la membrana plaquetaria, dando lugar a la reducción en ésta del número de puntos de unión al ADP tras su administración.

Ticlopidina

Tras una dosis única, alcanza su nivel plasmático máximo en 1 a 3 horas, pero si su administración continúa, se produce un efecto acumulativo, incrementándose su concentración al triple en unas 2-3 semanas de tratamiento. Su tiempo medio de eliminación tras una dosis única es de 24 a 36 horas, pero se prolonga hasta 96 horas cuando el tratamiento ha durado dos semanas. La dosis recomendada es de 250 mg/12 h, la cual da lugar a una prolongación del tiempo de sangría entre 1,5 y 2 veces el valor control.

Desde el punto de vista clínico, es un antiagregante muy eficaz, y ha demostrado mayor efectividad que el AAS en la prevención del ictus[13] y, al menos, igual eficacia que ella en el punto final combinado de ictus, IAM o muerte, en pacientes con previo AIT o ictus menor. También se ha utilizado con éxito, asociada al AAS, tras angioplastia coronaria o implantación de *stent* coronario.

Su principal problema son sus efectos secundarios, especialmente la neutropenia, con una incidencia del 2,4% de recuentos por debajo de $1,2 \times 10^9$/L. También puede producir trombocitopenia y pancitopenia. Estos trastornos hematológicos suelen aparecer precozmente, y son reversibles si se suspende rápidamente su administración, por lo que se recomienda realizar un hemograma quincenalmente durante los 3 primeros meses de tratamiento. Los efectos adversos más frecuentes son los gastrointestinales (diarrea, vómitos), que no suelen requerir la supresión del tratamiento. También se han descrito reacciones alérgicas cutáneas y discreta elevación del colesterol. Todo ello ha limitado su aplicación clíni-

ca y, en la actualidad, ha sido prácticamente sustituida por el clopidogrel en sus indicaciones.

Clopidogrel

Tras su administración es rápidamente transformado en el hígado en un metabolito activo, y el fármaco no es prácticamente detectable en el plasma de los pacientes en tratamiento. Inhibe, como la ticlopidina, la agregación inducida por ADP. La dosis recomendada es de 75 mg una vez al día, que da lugar a una prolongación del tiempo de sangría similar a la que se obtiene con la ticlopidina. Iniciando el tratamiento con esta dosis, se logra una reducción en la agregación plaquetaria de sólo el 25-30% al segundo día, y alcanza su efecto máximo en 4 a 7 días, el cual no desaparece hasta 7 días después de su supresión, lo que hace suponer una acción irreversible sobre la plaqueta. En ocasiones, se utiliza una primera dosis de carga (300 mg) para acelerar la aparición del efecto antiagregante, que se hace demostrable a las 2 horas y se mantiene durante 48 horas.

En un estudio de grandes dimensiones (CAPRIE)[14], comparativo con AAS (325 mg/día), y que incluía más de 19.000 pacientes con ictus isquémico o IAM recientes o con arteriopatía periférica sintomática, que fueron seguidos de 1 a 3 años, la incidencia anual de ictus, IAM o muerte vascular fue algo menor con clopidogrel, con una reducción del riesgo relativo del 8,7% (IC 95% 0,3-16,5). Pero lo más importante es que sus efectos secundarios fueron escasos, con una incidencia de neutropenia similar a la de los pacientes que recibieron AAS. Esta diferencia con la ticlopidina ha hecho que la haya sustituido de forma casi total.

Entre sus indicaciones se incluye la implantación de *stent* coronario[15], recomendándose la prolongación de su administración durante aproximadamente 1 año tras intervencionismo coronario percutáneo (ICP)[16]. También se recomienda su uso prolongado en los síndromes coronarios agudos sin elevación del segmento ST[17]. En todos estos casos, su administración se asocia con la de AAS.

Fármacos que incrementan la concentración plaquetaria de AMPc

Dipiridamol

Es un derivado de la pirimidopirimidina con acción vasodilatadora que inhibe la agregación plaquetaria, especialmente en sangre total, por acumulación de AMPc secundaria al bloqueo de la fosfodiesterasa, la enzima encargada de su degradación. Su principal efecto adverso son las cefaleas secundarias a su acción vasodilatadora.

Su eficacia como antiagregante, solo o asociado con el AAC, ha sido puesta en duda basándose en los resultados de diversos estudios. Cabe decir que la formulación inicial daba lugar a una absorción irregular, y que se han utilizado, probablemente, dosis insuficientes o excesivamente espaciadas, en muchos casos. La aparición de una presentación farmacéutica con una mayor biodisponibilidad y la utilización de dosis diarias más elevadas, repartidas en dos tomas, más coherente con su vida media de 10 horas, podrían explicar el beneficio obtenido en el European Stroke Prevention Study 2, en el que la incidencia de ictus, en pacientes con previo AIT o ictus, se redujo en un 18% con AAS sola (50 mg/día), y en un 37% con igual dosis de AAS más 400 mg/día de dipiridamol[18]. Actualmente, se halla en desarrollo un nuevo estudio, europeo-australiano, que compara esta asociación con la administración de cumarínicos en dosis moderadas.

Prostaciclina y otros prostanoides

La PGI_2, otros prostanoides naturales (PGE_1) y algunos análogos sintéticos (iloprost, ciprostene) actúan aumentando el nivel de AMPc mediante la estimulación de la adenilatociclasa, la enzima encargada de su síntesis. Su principal inconveniente, como fármacos antiagregantes, es su corta vida media y las consecuencias de su efecto vasodilatador, en el cual están basadas sus actuales indicaciones.

Antagonistas del receptor de la integrina $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GPIIb/IIIa)

Los diversos fármacos analizados hasta ahora interfieren en áreas parciales del proceso de activación plaquetaria, dejando indemnes las restantes. Es conocido que la expresión de la integrina $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GPIIb/IIIa) en la membrana de la plaqueta es el paso último para la agregación plaquetaria, con independencia de cuál sea el estímulo desencadenante, por lo que esta integrina se ha convertido en el objetivo de los nuevos antiagregantes. Sus inhibidores pueden ser anticuerpos monoclonales contra el receptor o péptidos naturales (disintegrinas) conteniendo la secuencia Arg-Gly-Asp (RGD), péptidos sintéticos conteniendo esta secuencia (o la equivalente Lys-Gly-Asp), seudopéptidos o miméticos RGD no peptídicos, todos ellos capaces de competir con el fibrinógeno y con el factor Von Willebrand por la ocupación del receptor.

Con el anticuerpo monoclonal *abciximab* (*7E3 Fab*), tras la administración intravenosa de un bolo de 0,25 mg/kg se obtiene un bloqueo del receptor superior al 80%, con reducción de la agregación al ADP a menos del 20% del valor inicial, y con una afectación moderada del tiempo de sangría, que se recupera en unas 12 horas, mientras que la agregación al ADP lo hace entre 24 y 48 horas. Si tras el bolo se establece una perfusión de 10 µg/min, su efecto puede mantenerse durante unas 12 horas. Tras una angioplastia coronaria ha demostrado su eficacia en la reducción de la mortalidad, del IAM y de la necesidad de revascularización urgente, hasta en el 56% en dos estudios (EPIC y EPILOG). Las complicaciones hemorrágicas fueron importantes en el primero, pero se redujeron en el 40% en el segundo[19], disminuyendo las dosis de heparina asociadas. Otra complicación es la trombocitopenia, con recuentos por debajo de 50×10^9/L, que afecta del 1 al 2% de los pacientes, recuperándose en unos días.

Otros importantes antagonistas, aunque de menor potencia son el *tirofibán*, un derivado no peptídico de la tirosina, y la *eptifibatida*, un heptapéptido cíclico, que también se han mostrado eficaces en la prevención de complicaciones cardíacas tras ICP.

Por el contrario, los antagonistas del complejo GPIIb/IIIa no han demostrado su utilidad en los síndromes coronarios agudos sin elevación del segmento ST cuando éstos no son sometidos precozmente a ICP[20]. Tampoco en su asociación a los trombolíticos en el tratamiento del IAM han logrado reducir la mortalidad a los 30 días, pero sí las complicaciones no mortales[21].

Los productos de este grupo activos por vía oral, administrados a más largo plazo, carecen actualmente de indicación

ya que, lejos de aportar beneficio alguno, aumentaban la mortalidad.

ANTICOAGULANTES

Bajo este epígrafe se reúne un conjunto heterogéneo de fármacos cuya utilidad clínica se basa en el enlentecimiento de la coagulación sanguínea. Se distinguen tres principales mecanismos de acción: la potenciación de la antitrombina, propia de las heparinas y pentasacáridos; el bloqueo directo de la trombina, que es desarrollado por las hirudinas, sus derivados y algunas moléculas sintéticas, y la interferencia en la síntesis de las serinproteasas vitamina K dependientes de la coagulación, que efectúan los cumarínicos.

Heparina no fraccionada (HNF) y heparinas de bajo peso molecular (HBPM)

Estructura y origen

La HNF es un glucosaminoglucano cuyas cadenas contienen una secuencia repetitiva de unidades disacáridas formadas por un ácido urónico y una glucosamina. Los residuos de glucosamina y ácidos urónicos pueden estar sulfatados y acetilados en mayor o menor medida. La heparina comúnmente utilizada en clínica posee tres radicales sulfato por unidad disacárida, confiriéndole una fuerte carga negativa. La HNF presenta cadenas de longitud muy diversa, variando su peso molecular entre 3 y 50 kDa, lo que corresponde de 10 a 167 unidades de sacárido, si bien predominan las formas de peso medio, alrededor de 15 kDa (unos 50 sacáridos).

Las HBPM se obtienen a partir de las HNF mediante despolimerización de sus cadenas por métodos químicos o enzimáticos, lo que da lugar a fragmentos de heparina que presentan un peso molecular entre 2 y 9 kDa, que corresponde a un número de sacáridos por cadena entre 7 y 30, con un valor medio de 5 kDa (17 sacáridos)[22].

Mecanismo de acción

La acción antitrombótica de las heparinas se debe, fundamentalmente, a su capacidad de potenciar la actividad de la antitrombina. Es decir, las heparinas no poseen una acción antitrombínica propia, como ocurre con la hirudina, sino que dependen, para expresar su efecto, de la antitrombina. Ésta es un inhibidor de serinproteasas, que inhibe especialmente a la trombina y al factor X activo (factor Xa). En presencia de heparina sufre un cambio estructural que hace más accesible su centro activo, lo que da lugar a una mayor actividad neutralizante, acelerándose ésta más de mil veces en presencia de una concentración de heparina de 1 UI/ml. La heparina se une a la antitrombina mediante un pentasacárido específico que se encuentra sólo en un tercio de las cadenas, constituyendo la fracción de alta afinidad para la antitrombina, que sería la principal responsable del efecto anticoagulante.

La longitud de las cadenas de heparina no influye en su efecto potenciador de la acción inhibidora de la antitrombina sobre el factor Xa, pero no ocurre así con la potenciación de su capacidad de inhibición de la trombina. Para la primera acción sólo se requiere la unión de la cadena de heparina a la molécula de antitrombina, lo que se logrará, cualquiera que sea la longitud de dicha cadena, siempre que contenga el pentasacárido específico. Por el contrario, para la potenciación del efecto antitrombina se requieren cadenas con por lo menos 18 sacáridos, que puedan unirse a la vez a las moléculas de antitrombina y de trombina, formando un complejo ternario (fig. 38.2). Debido a este hecho, las HBPM, que tienen un gran contenido en cadenas de menos de 18 sacáridos, poseen una capacidad para potenciar la función anti-Xa de la antitrombina superior a la de potenciación de la inhibición de la trombina (tabla 38.3).

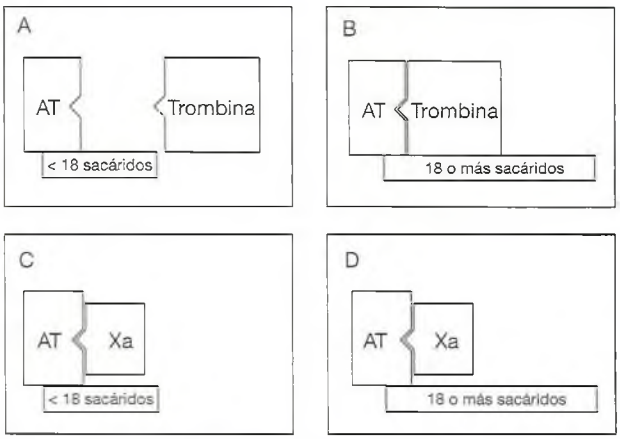


Figura 38.2. Las cadenas de heparina de menos de 18 sacáridos no potencian la inhibición de la trombina por la antitrombina (*a*), pero sí la del factor Xa (*c*). Las cadenas de 18 o más sacáridos potencian la inhibición de ambas serinproteasas (*b* y *d*).

Otras acciones antitrombóticas de las heparinas, de menor importancia, son la potenciación del llamado cofactor II de la heparina, un inhibidor específico de la trombina, de menor relevancia fisiológica, para cuya activación se precisan cadenas de heparina de 24 o más sacáridos, por lo que su papel será escaso en lo que respecta a las HBPM. También desempeñaría un cierto papel antitrombótico la inducción de actividad fibrinolítica por liberación del activador tisular del plasminógeno (t-PA) a partir de la célula endotelial. Especial atención merece la capacidad de inducir la liberación del inhibidor específico de la vía coagulativa del factor tisular (TFPI) propia de las HBPM y también de la HNF. Este inhibidor se une a los factores VIIa y Xa, bloqueando su acción, lo que explicaría parte del efecto anti-Xa que desarrollan las HBPM[23].

Farmacocinética

Tras su inyección intravenosa, la HNF presenta una cinética de eliminación compleja mediante dos mecanismos, uno rápido y saturable, y otro más lento, de primer orden. El primero depende de su captación por parte de las células endoteliales y macrófagos, dando lugar, por despolimerización, a moléculas más cortas y menos sulfatadas. El segundo es principalmente renal. Esta compleja cinética de eliminación motiva que su vida media sea variable en función de la dosis administrada, pasando de 30 minutos para la inyección de un bolo de 25 UI/kg a 150 minutos tras un bolo de 400 UI/kg.

Otra característica negativa es su marcada tendencia a unirse a determinadas proteínas plasmáticas, lo que, junto

TABLA 38.3

Datos comparativos de las heparinas de bajo peso molecular comercializadas en España

Producto	Método de fragmentación	Masa molecular media (Da)	Razón anti-Xa/ antitrombina	Vida media en plasma (minutos)
Bemiparina	Despolimerización y filtración	3.600	8,0/1	246
Dalteparina	Ácido nitroso	5.000	2,0/1	129
Enoxaparina	Bencilación y fragmentación alcalina	4.500	3,9/1	154
Nadroparina	Ácido nitroso	4.300	3,6/1	147
Tinzaparina	Heparinasa	4.500	1,9/1	111

con la antes mencionada captación por endotelios y macrófagos, da lugar a una biodisponibilidad escasa y variable. Todo ello contribuye a la variabilidad en la respuesta anticoagulante de cada individuo y, por tanto, a la necesidad de control analítico cuando se administra en dosis terapéuticas. Por el contrario, una de las principales características de las HBPM es la elevada biodisponibilidad, incluso por vía subcutánea, debida a una menor tendencia a unirse a las proteínas, tanto del tejido conectivo como plasmáticas. Además, poseen también una vida media de dos a cuatro veces mayor que la de la HNF, debido a una muy escasa afinidad por las células endoteliales y macrófagos, con predominio de la cinética de eliminación de primer orden por vía renal[22] (tabla 38.4). Estas propiedades dan lugar a un nivel en sangre predecible, con escasa variabilidad individual, lo que permite su administración por vía subcutánea, espaciando las inyecciones 24 horas en la administración profiláctica, y entre 12 y 24 horas para las dosis terapéuticas, sin necesidad de un control analítico, exceptuando los pacientes con insuficiencia renal grave o con peso muy alejado del valor promedio. Cuando éste sea preciso, para la administración cada 12 horas se considera como margen terapéutico el que corresponde a una actividad en plasma entre 0,6 y 1,0 UI anti-Xa/mL a las 4 horas de la última inyección, siendo algo más elevado para la administración cada 24 horas (1-2 UI anti-Xa/mL)[22].

Indicaciones, posología y resultados clínicos

Profilaxis de la enfermedad tromboembólica venosa

De entre las medidas profilácticas utilizadas para prevenir la ETEV en cirugía, la más utilizada hasta finales de la década de 1980 fue la administración de HNF en dosis de 5.000 UI 2 horas antes de la intervención, y 5.000 UI cada 8 o 12 horas hasta la movilización del paciente o la eliminación de los factores de riesgo, obteniéndose una reducción superior al 60% de la incidencia de trombosis venosa profunda (TVP) detectada mediante fibrinógeno marcado, y de tromboembolismo pulmonar (TEP) mortal, en todos los tipos de cirugía, con mínimas complicaciones hemorrágicas[24]. Sin embargo, en cirugía ortopédica, especialmente en la de cadera, la frecuencia de TVP era todavía inaceptablemente alta. Para mejorar esta incidencia, se utilizó la individualización de las dosis de HNF mediante control analítico, cuyo uso no se ha extendido por ser engorroso (tabla 38.5).

A partir de la segunda mitad de la década de 1980 se introdujeron las HBPM en la profilaxis de la ETEV en cirugía general. La dosis diaria recomendada para cada fármaco es diferente, y oscila entre 2.000 y 3.000 UI anti-Xa (tabla 38.5). A estas dosis, la administración se hará también 2 horas antes de la intervención, aceptándose que no incrementan el riesgo hemorrágico ni el de hematoma local en caso de anestesia espinal, pero sí lo harían las dosis superiores a 3.400 UI anti-Xa, que deberían administrarse de 10 a 12 horas antes del acto quirúrgico. En cualquier caso, se continuará con una sola inyección al día. En cirugía general, se obtienen resultados similares o algo superiores a los de la HNF en cuanto a la prevención de la TVP, pero con una mayor reducción del TEP.

En cirugía ortopédica electiva y traumatológica se utilizan dosis de entre 4.000 y 5.000 UI anti-Xa cada 24 horas. A estas dosis, habida cuenta del riesgo hemorrágico de este tipo de cirugía y del uso habitual de anestesia espinal, se administra la primera dosis 12 horas antes de la intervención, aunque se han publicado resultados satisfactorios iniciando

TABLA 38.4

Características diferenciales de la heparina no fraccionada y de las heparinas de bajo peso molecular

Heparina no fraccionada	Heparinas de bajo peso molecular
Masa molecular alrededor de 15 kDa	Masa molecular alrededor de 5 kDa
Escasa biodisponibilidad	Elevada biodisponibilidad
Marcada interacción con el endotelio, macrófagos y proteínas plasmáticas	Escasa interacción con el endotelio, macrófagos y proteínas plasmáticas
Cinética de eliminación compleja	Cinética de eliminación regular
Vida media dependiente de la dosis	Vida media prolongada
Acciones anti-Xa y antitrombina iguales	Acción anti-Xa superior a la antitrombina
Interacción con las plaquetas	Escasa interacción con las plaquetas

TABLA 38.5

Posología recomendada para la heparina no fraccionada y las heparinas de bajo peso molecular comercializadas en España

Producto	Terapéutica (territorios venoso y arterial)	Profilaxis de la ETEV	
		Cirugía general	Cirugía ortopédica
Heparina no fraccionada	Bolo inicial: 5.000 UI (o 70 UI/kg) Mantenimiento: 400–500 UI/kg/24 h e.v. en perfusión continua o subcutánea Ajuste mediante TTPA (margen equivalente a 0,3-0,7 U anti-Xa/mL)	5.000 UI/8 o 12 h	Dosis ajustadas para mantener TTPA en el límite superior del margen de referencia
Bemiparina	115 UI anti-Xa/kg/24 h (Tratamiento de la TVP)	2.500 UI anti-Xa/24 h	3.500 UI anti-Xa/24 h
Dalteparina	120 UI anti-Xa/kg/12 h (Síndromes coronarios agudos sin elevación del ST) 100 UI anti-Xa/kg/12 h 200 UI anti-Xa/kg/24 h (Tratamiento de la ETEV)	2.500 UI anti-Xa/24 h	5.000 UI anti-Xa/24 h
Enoxaparina	100 UI anti-Xa/kg/12 h (Síndromes coronarios agudos sin elevación del ST y tratamiento de la ETEV)	2.000 UI anti-Xa/24 h	4.000 UI anti-Xa/24 h
Nadroparina	85,5 UI anti-Xa/kg/12 h 171 UI anti-Xa/kg/24 (Tratamiento de la ETEV) 86 UI anti-Xa/kg/12 h (Síndromes coronarios agudos sin elevación del ST)	2.850 UI anti-Xa/24 h	< 70 kg: 2.850 UI anti-Xa/d × 3 días y seguir con 3.800 UI anti-Xa/24 h > 70 kg: 3.800 UI anti-Xa/d × 3 días y seguir con 5.700 UI anti-Xa/24 h
Tinzaparina	175 UI anti-Xa/Kg/24 h (Tratamiento de la ETEV)	3.500 UI anti-Xa/24 h	4.500 UI anti-Xa/24 h Peso > 90 kg: 50 UI/kg/24 h

su administración 12 a 24 horas después de ella. La eficacia de las HBPM en cirugía ortopédica electiva es claramente superior a la de la HNF en dosis profilácticas estándar (tabla 38.6), con resultados similares a los obtenidos con HNF a dosis ajustadas individualmente[25]. En los metaanálisis publicados se ha comparado la incidencia de complicaciones hemorrágicas preoperatorias y postoperatorias en los pacientes sometidos a profilaxis de la ETEV con HNF o con HBPM, y no se han obtenido diferencias significativas en ninguno de ellos[26].

TABLA 38.6

Profilaxis de la enfermedad tromboembólica venosa postoperatoria. Comparación entre heparina no fraccionada (HNF) y heparinas de bajo peso molecular (HBPM)

Tipo de cirugía	Incidencia de eventos (%)		
	TVP	TEP	Sangrado
General			
HNF	6,7	0,70	2,6
HBPM	5,3	0,31	2,6
Ortopédica			
HNF	**21,2**	4,1	1,3
HBPM	**13,8**	1,7	0,9

TVP: trombosis venosa profunda; TEP: tromboembolismo pulmonar. Metaanálisis de Nurmohamed et al[25] (44 estudios).

Con respecto a los pacientes no quirúrgicos, se dispone de una literatura muy escasa y, con frecuencia, se extrapola a éstos los resultados de los estudios realizados en el área de la cirugía. Cabe destacar en este campo sólo un estudio en pacientes hospitalizados con enfermedad médica aguda, como insuficiencia cardíaca congestiva importante, insuficiencia respiratoria aguda, o con infección aguda, patología reumática aguda o enfermedad inflamatoria intestinal en los que se asocie algún factor de riesgo, como edad avanzada, obesidad o previa ETEV, entre otros. En dicho estudio se demuestra que la HBPM administrada en dosis profiláctica alta (similar a la utilizada en cirugía ortopédica) reduce significativamente el tromboembolismo venoso, pero se muestra ineficaz en dosis profiláctica estándar[27].

Tratamiento de la TVP y del TEP

Desde la década de 1940, la HNF ha mostrado su eficacia en el tratamiento de la ETEV reduciendo la incidencia del TEP

en pacientes con TVP a menos del 5% y la mortalidad relacionada con el TEP del 25 a menos del 10% de los casos. Su administración se inicia con un bolo de 5.000 UI o de 70 UI/kg de peso, por vía i.v., seguidas de 400 a 500 UI/kg en 24 horas, intravenosa o subcutánea, para obtener una concentración plasmática de heparina de entre 0,3 y 0,7 UI anti-Xa/mL, lo que corresponde a prolongaciones de entre 1,5 y 3 veces el valor control del tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA), variables en función de la diferente sensibilidad de los reactivos comerciales[28]. La vía de administración clásica es la intravenosa en perfusión continua mediante bomba. La administración discontinua da lugar a una mayor dosis diaria y, en algunos estudios, a un mayor riesgo hemorrágico. La vía subcutánea es igualmente eficaz. El primer objetivo del control es asegurar una dosis antitrombótica suficiente. La relación de la complicación hemorrágica con la existencia o no de un control analítico no es tan evidente, y más bien se asocia con la aplicación de métodos diagnósticos o terapéuticos cruentos, con la administración discontinua, y con edad avanzada, especialmente en el sexo femenino. Se recomienda mantener la administración de heparina durante un mínimo de 5 días, con una fase de superposición con el tratamiento anticoagulante oral.

A partir de la década de 1990 se han publicado una serie de trabajos comparativos entre las diversas HBPM y la HNF en el tratamiento de la TVP. La dosis diaria de HBPM se hallaba, en general, alrededor de 200 UI anti-Xa/kg/día, administradas en una sola inyección o repartidas en inyecciones cada 12 horas (tabla 38.5), sin necesidad, en general, de control analítico. En dos previos metaanálisis que recogen estos trabajos[29,30] se observa una clara reducción del riesgo relativo de recurrencia de la ETEV, sangrado mayor y mortalidad total con la administración de HBPM, en comparación con la HNF, pero en un tercero publicado posteriormente se aprecia una reducción del riesgo relativo para los eventos antes citados muy inferior, con ausencia de significación estadística, exceptuando la reducción en la mortalidad total[31] (tabla 38.7).

Las contraindicaciones de las HBPM son las mismas que las de la HNF, ya que no parece existir una diferencia significativa en la incidencia de complicaciones hemorrágicas sino, en todo caso, una tendencia a su reducción (tabla 38.8).

Actualmente, se puede afirmar que las HBPM poseen una eficacia igual o ligeramente superior a la de la HNF en el tratamiento de la TVP, con la ventaja de no precisar de la perfusión continua i.v. ni de control analítico, por lo que, una vez establecido el diagnóstico por medios instrumentales, y si la situación clínica del paciente es satisfactoria, éste puede realizar el tratamiento con HBPM en su domicilio y sobre él iniciar la administración de anticoagulantes orales.

En el único trabajo de grandes dimensiones comparativo entre HBPM y HNF en el tratamiento del TEP[32] no hubo diferencias en la incidencia de hemorragia mayor, en la recurrencia, ni tampoco en mortalidad total. La mejoría en la gammagrafía pulmonar alcanzaba igual número de pacientes en los dos grupos, con una reducción de la obstrucción vascular pulmonar prácticamente idéntica.

TABLA 38.7

Tratamiento de la trombosis venosa profunda (TVP). Riesgo relativo (RR) con las heparinas de bajo peso molecular frente a heparina no fraccionada

Dato	RR	IC 95%	P
Recurrencia ETEV	0,85	0,65 – 1,12	0,20
Hemorragia mayor	0,63	0,37 – 1,05	0,08
Hemorragia menor	1,18	0,87 – 1,61	0,28
Mortalidad total	0,76	0,59 – 0,98	0,03

ETEV: enfermedad tromboembólica venosa.
Metaanálisis de Dolovich et al[31]

TABLA 38.8

Contraindicaciones de la administración de heparina no fraccionada y heparinas de bajo peso molecular en dosis terapéuticas (United States Pharmacopeial Convention)

Absolutas
- Hemorragia digestiva activa
- Hipertensión arterial grave no controlada
- Hemorragia cerebral reciente
- Aneurisma cerebral o aórtico disecante
- Amenaza de aborto

Relativas
- Tendencia hemorrágica actualmente no activa
- Pericarditis o derrame pericárdico
- Cirugía reciente, especialmente oftálmica o neurocirugía
- Parto reciente
- Traumatismo importante

Síndromes coronarios agudos sin elevación ST

El tratamiento antitrombótico clásico de estos pacientes es la asociación de HNF al AAS, la cual da lugar a una reducción del riesgo de muerte, IAM o isquemia refractaria del 33% con respecto al AAS solo. Dos estudios de grandes dimensiones que comparaban HNF i.v. con enoxaparina (100 UI anti-Xa/kg cada 12 horas), recibiendo ambos además AAS, hallaron una incidencia de muerte o IAM o de recurrencia de la angina a los 30 días significativamente menores en el grupo que recibía enoxaparina[33]. Otras HBPM han mostrado resultados similares a los de la HNF en esta indicación.

Otras indicaciones de las heparinas

En el IAM no tratado con trombolíticos, la HNF reduce la mortalidad y reinfartación. En la terapéutica trombolítica del IAM es necesaria su asociación con alteplasa y con otros trombolíticos de segunda generación, para prevenir la reoclusión coronaria precoz. En el IAM, especialmente anterior extenso, también es útil para la prevención del embolismo sistémico secundario al trombo mural. Tiene un claro papel en los procedimientos del intervencionismo coronario (angioplastia, implantación de *stent*) y en el mantenimiento de circuitos extracorpóreos para cirugía cardíaca o para hemodiálisis, y para esta última también son útiles las HBPM en dosis bajas. Están indicadas también en la fase aguda de las oclusiones arteriales periféricas.

Contraindicaciones y efectos adversos

Hemorragia

El principal efecto adverso de las heparinas es la hemorragia, y la forma más eficaz de prevenirla es la observación de las contraindicaciones para su administración (tabla 38.8).

Ante complicaciones hemorrágicas importantes o la necesidad inmediata de practicar un procedimiento cruento, es necesario neutralizar la heparina previamente administrada. Para ello se utiliza el sulfato de protamina, teniendo en cuenta que 1 mg de éste neutraliza 100 UI de heparina, y que la cantidad de heparina que se ha de neutralizar está en función de su vida media. Como norma práctica, cuando se ha de neutralizar HNF en perfusión continua se administra una dosis de sulfato de protamina de 1 mg por cada 100 UI anti-Xa perfundidas en las 2 últimas horas. El sulfato de protamina neutraliza totalmente tanto la actividad antitrombina como la anti-Xa de la HNF. En el caso de las HBPM, se neutraliza también totalmente la actividad antitrombina, pero sólo parcialmente la actividad anti-Xa, aunque a nivel práctico, la recomendación es la misma que para la HNF, aquí referida a la última dosis de HBPM inyectada.

Trombocitopenia inducida por heparina (TIH)

Se han descrito dos tipos; el primero de ellos (tipo I) cursa con una moderada reducción del recuento de plaquetas que, en general, se mantiene por encima de 100×10^9/L, sin manifestaciones clínicas de ningún tipo, y no está mediada por un mecanismo inmunológico. Suele presentarse en los primeros días (2-4) del tratamiento, y se observa hasta en el 30% de los casos.

El segundo (tipo II) es, aparte de la hemorragia, el efecto secundario más grave en el tratamiento con heparinas. Suele presentarse tardíamente, entre 5 y 10 días después de haber iniciado el tratamiento con heparina, y es de carácter inmunitario, secundario a la producción de anticuerpos (generalmente, de tipo IgG) dirigidos contra el complejo heparina-factor plaquetario 4 (FP4). Afortunadamente, es mucho más raro (< 1% de los pacientes tratados con HBPM o con HNF y no sometidos a cirugía)[34]. Son especialmente infrecuentes las formas graves, que cursan con una intensa trombocitopenia, alrededor o por debajo de 50×10^9/L, y que, en un 70% de los casos, se asocian con trombosis arteriales o con tromboembolismo venoso, con una mortalidad no despreciable[35]. Por tanto, es aconsejable controlar la cifra de plaquetas durante las dos primeras semanas de la administración de heparinas. La aparición de una clara plaquetopenia en un paciente tratado con HNF o HBPM debe alertar sobre la posibilidad de hallarse ante este cuadro. La confirmación por parte del laboratorio tiene importantes limitaciones. La prueba de elección es la demostración de anticuerpos contra heparina-FP4 por método inmunoenzimático, con una fiabilidad diagnóstica elevada (80-90%), pero su positividad sólo viene a reforzar la sospecha clínica, ya que su presencia no es totalmente específica de este cuadro clínico, y su negatividad tampoco excluye esta causa de trombocitopenia. La técnica de liberación de serotonina marcada en plaquetas lavadas tiene una alta sensibilidad y especificidad, pero resulta compleja para la práctica de la mayoría de laboratorios.

Cuando se produce una trombocitopenia inmunitaria secundaria a la administración de HNF o de HBPM, el tratamiento de elección, y el único registrado en España, es la hirudina recombinante (lepidurina)[36] en dosis de 0,15 mg/kg/h, que no presenta reacción cruzada alguna con las heparinas y permite una anticoagulación eficaz. Dado que se han recogido algunos casos de reacciones anafilácticas graves (aproximadamente, 1:5.000 de los tratados), todos ellos fuera de la única indicación aprobada en ficha técnica europea, la TIH, se recomienda evitar su administración a pacientes con antecedentes personales de reacciones anafilácticas, así como a aquellos ya tratados previamente con hirudinas.

Osteoporosis

La administración de HNF durante períodos de más de un mes puede asociarse con osteoporosis. Las HBPM no parecen dar lugar a esta complicación con tanta frecuencia.

Embarazo y lactancia

La HNF ha sido hasta ahora el anticoagulante de elección durante el embarazo, especialmente en los tres primeros meses y en el noveno porque, a diferencia de los anticoagulantes orales, no pasa la barrera placentaria. Las HBPM tampoco traspasan la barrera placentaria, y existe una limitada literatura en la que se han mostrado efectivas y seguras durante el embarazo. En la práctica, se emplean ampliamente en esta situación; sin embargo, a falta de estudios prospectivos, las firmas productoras suelen guardar una prudente reserva sobre su indicación. Tampoco se sabe si pasan a la leche materna ni, de hacerlo, en qué cuantía, aunque se considera que su efecto sobre el lactante sería irrelevante.

Otros efectos adversos

Las necrosis cutáneas inducidas por heparina se presentan en los puntos de inyección subcutánea unas 24 horas después de ésta. Aparecen a partir del quinto día de iniciada su administración, y están asociadas con la presencia de anticuerpos dirigidos contra la heparina-FP4, indistinguibles de los propios de la TIH tipo II.

Se ha descrito una inhibición en la síntesis de aldosterona en el tratamiento con heparina que suele carecer de importancia clínica, y los casos de hipoaldosteronismo son excepcionales.

Pentasacáridos

Los pentasacáridos sintéticos poseen mayor afinidad por la antitrombina que el pentasacárido natural presente en las heparinas, poseen una elevada actividad anti-Xa y carecen de actividad antitrombina. El principal de ellos es *fondaparinux*[37], que presenta una biodisponibilidad del 100% en vía subcutánea, una vida media de 15 a 20 horas y aclaramiento renal, reducido sólo en caso de insuficiencia renal importante; no posee un antídoto específico. Con él se han desarrollado cuatro grandes estudios en la prevención de la TVP en cirugía ortopédica y traumatología, en los que fueron incluidos más de 7.000 pacientes. Se utilizó una dosis de 2,5 mg/24 h, iniciando la administración 6 horas después de la intervención. En conjunto, se halló una reducción del riesgo de TVP de alrededor del 50% frente a HBPM[38]. En alguno de los estudios hubo una mayor incidencia de complicaciones hemorrágicas en los tratados con fondaparinux, la cual parece relacionarse con una administración postoperatoria demasiado precoz.

También en el tratamiento de la fase aguda del TEV se han publicado dos estudios, uno en TVP[39] y otro en TEP, comparativos con enoxaparina, con resultados similares en efica-

cia y seguridad. En ellos, la dosis de fondaparinux fue de 7,5 mg/día.

Idraparinux es otro pentasacárido sintético que permite su administración una vez por semana, dada su larga vida media[40]. Todavía no ha sido comercializado, pero se han iniciado estudios en fase III en el tratamiento de la TVP, el TEP y la fibrilación auricular.

Anticoagulación oral con cumarínicos

Mecanismo de acción

Las proteínas de la coagulación llamadas vitamina K dependientes (factores II, VII, IX y X, y proteínas inhibidoras C y S) presentan un grupo de residuos de ácido carboxiglutámico (residuos Gla) que permiten su unión, mediante puentes de calcio iónico, a los radicales carboxilo e hidroxilo de los fosfolípidos de la membrana de la plaqueta o de otras células, sobre la que tiene lugar el proceso coagulativo fisiológico. La carboxilación suplementaria del ácido glutámico requiere la participación de la vitamina K en su forma activa (hidroquinona), la cual es degradada a epóxido durante el proceso. La propia célula hepática, mediante reductasas, regenera este epóxido a su forma activa, lo cual permite otro nuevo ciclo en la formación de las moléculas activas de los factores de la coagulación. Este continuo reciclado explica lo exiguas que son las necesidades diarias de vitamina K (1 µg por kg y día). Los cumarínicos, que poseen una similitud estructural con la vitamina K, interfieren de forma competitiva en el proceso de regeneración de ésta (fig. 38.3). En ausencia de vitamina activa, se sintetizan proteínas carentes en residuos Gla y, por tanto, incapaces de participar en el proceso coagulativo[41].

Posología y su control

En nuestro país están comercializadas la acenocumarina y la warfarina, de las que la primera es la más empleada. Ésta alcanza su acción terapéutica (reducción de la concentración de factores de la coagulación circulantes), en general, a las 48 o 72 horas de iniciar su administración, y su efecto desaparece también rápidamente tras su supresión, lo que le confiere comodidad de manejo. Por el contrario, en los países anglosajones se utiliza casi exclusivamente la warfarina, que presenta tiempos más largos en la inducción y en la desaparición de su efecto, pero que parece ser más estable en su efecto a largo plazo debido a una vida media más prolongada.

Se recomienda iniciar la administración con dosis diarias cercanas a la dosis media diaria para la población de cada fármaco (acenocumarina 2 mg, warfarina 5 mg), evitando las dosis de carga que pueden dar lugar a hemorragia y a necrosis cutáneas de origen trombótico, especialmente en casos de déficit de proteína C, debido a la corta vida media de este inhibidor. El ajuste posterior de la dosificación se hará, obligadamente, mediante control analítico, utilizando el tiempo de protrombina (TP), y requiere cierto grado de experiencia.

Cuando los resultados del TP se expresan en forma de la razón simple tiempo del paciente/tiempo del control (P/C), resultan extremadamente variables en función de la sensibilidad del reactivo (tromboplastina) utilizado en su determinación, lo cual impide establecer márgenes terapéuticos de uso universal. Para solucionar este problema, la OMS ha creado tromboplastinas de referencia, y los resultados del TP destinado al control del tratamiento anticoagulante oral deberán expresarse en forma de Razón Normalizada Internacional (INR), que representa la razón P/C que se hubiera obtenido en caso de realizar la determinación utilizando como tromboplastina el primer estándar humano de la OMS. Este resultado, que es independiente del reactivo utilizado, se calcula elevando la razón P/C al Índice de Sensibilidad Internacional (ISI) de la tromboplastina utilizada (que debe ser aportado por el fabricante) mediante la fórmula: INR = razón P/C^{ISI}. Ésta es la única forma correcta de expresar los resultados del TP cuando están destinados al control del tratamiento con cumarínicos, y la única que permite establecer márgenes terapéuticos de aceptación universal[41].

Contraindicaciones

En la tabla 38.9 se expone una relación de las contraindicaciones del tratamiento con cumarínicos, absolutas y relativas, estas últimas serán valoradas en función de la necesidad de

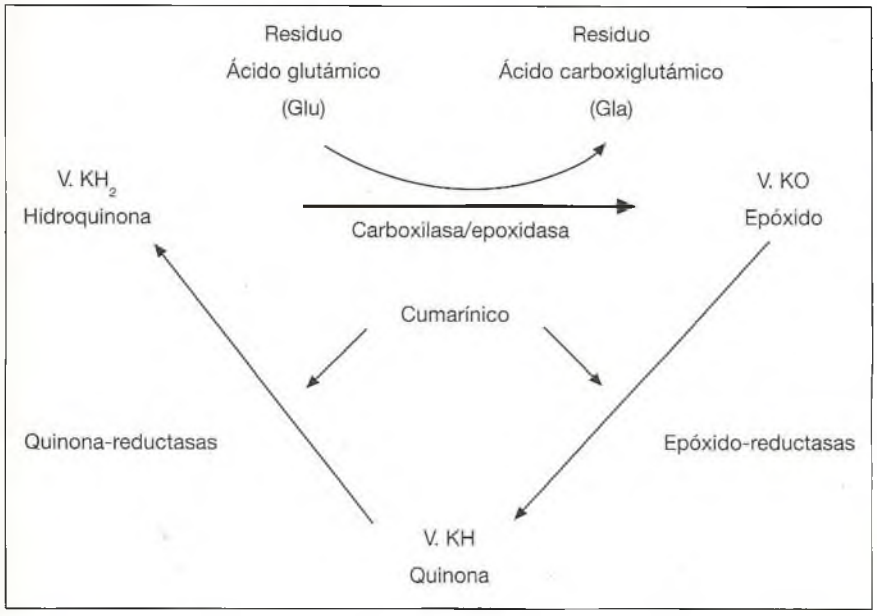


Figura 38.3. La vitamina K activa es transformada en epóxido inactivo durante la carboxilación de los residuos de ácido glutámico. Los anticoagulantes orales actúan impidiendo, de forma competitiva, la regeneración de vitamina K por las reductasas a su forma activa de hidroquinona.

TABLA 38.9

Contraindicaciones del tratamiento con cumarínicos

Contraindicaciones absolutas
- Diátesis hemorrágicas graves
- Procesos hemorrágicos activos (ulcus gastroduodenal sangrante, neoplasia ulcerada)
- Hipertensión arterial grave no controlable
- Hemorragia intracraneal reciente
- Aneurisma intracerebral

Contraindicaciones relativas
- Retinopatía hemorrágica, dependiendo de su gravedad
- Ulcus gastroduodenal activo
- Malabsorción intestinal
- Alcoholismo activo
- Escaso nivel mental
- Alteraciones mentales, especialmente con tendencia al suicidio
- Epilepsia
- Pericarditis con derrame
- Gestación (v. texto)

la anticoagulación y darán lugar, en muchos casos, a una pauta más moderada o a su supresión temporal.

Gestación, lactancia y anticonceptivos

La administración de cumarínicos durante el primer trimestre del embarazo puede dar lugar a embriopatía con malformaciones óseas (condrodisplasia *punctata*), siendo especialmente frecuente la aplasia del hueso nasal. Por otra parte, la anticoagulación oral durante el último mes del embarazo induce una peligrosa anticoagulación en el feto, con elevado riesgo de hemorragia intracraneal en caso de parto vaginal. Las pautas recomendadas en la Sexta Conferencia de Consenso del American College of Chest Physicians[42] incluyen la administración de heparina subcutánea en dosis terapéuticas, con control de laboratorio, durante todo el embarazo en el tratamiento de la ETEV, mientras que en las portadoras de prótesis valvulares mecánicas, teniendo en cuenta que no está plenamente demostrada la eficacia de la heparina en esta indicación, se plantea como alternativa terapéutica mantener la anticoagulación oral durante el segundo trimestre y la primera mitad del tercero, dada la muy escasa incidencia de complicaciones fetales cuando se limita su administración a este período.

La lactancia no está contraindicada durante la anticoagulación oral, cuando se utiliza acenocumarina o warfarina, que no pasan a la leche materna, pero no ocurre así con otros cumarínicos (fenprocumon, etilbiscumacetato o fenindiona).

Los actuales anticonceptivos orales, con bajas dosis de estrógenos, inducen un riesgo de trombosis muy escaso, que queda contrarrestado por el propio tratamiento anticoagulante. Lo mismo puede decirse de la terapéutica hormonal sustitutiva en la menopausia. Los dispositivos intrauterinos (DIU) no están contraindicados, pero algunas pacientes tratadas con anticoagulantes presentan hemorragias que obligan a retirarlos.

Fármacos potenciadores e inhibidores[43]

Los fármacos potenciadores pueden actuar (fenilbutazona, AAS) desplazando al cumarínico de la albúmina a la que se halla unido en el plasma, o bien inhibiendo su catabolismo (amiodarona), mientras que los inhibidores pueden bloquear la absorción intestinal del cumarínico (colestiramina) o acelerar su catabolismo (barbitúricos, carbamacepina, rifampicina). En ocasiones, como en el caso del AAS y otros antiinflamatorios no esteroideos (AINE), al efecto potenciador sobre el cumarínico hay que añadir la posibilidad de inducir erosiones en la mucosa gástrica, lo que incrementa en gran medida el riesgo hemorrágico. En la tabla 38.10 se incluye

TABLA 38.10

Fármacos que interfieren con los cumarínicos

POTENCIADORES
- Analgésicos-antiinflamatorios*
  - AAS a dosis altas y SALICILATOS
  - FENILBUTAZONA
  - Indometacina
  - Sulfinpirazona
  - Naproxeno
  - Piroxicam
- Antimicrobianos y antiparasitarios
  - TRIMETOPRIMA- SULFAMETOXAZOL
  - TETRACICLINAS (tetraciclina, doxicilina)
  - Macrólidos (eritromicina)
  - Quinolonas (ciprofloxacino)
  - Imidazoles (metronidazol, ketoconazol, ornidazol)
  - Isoniazida
  - Clindamicina
- Hipolipemiantes
  - CLOFIBRATO Y DERIVADOS (benzafibrato, fenofibrato)
  - Simvastatina y, ocasionalmente, otros inhibidores de HMG-CoA (pravastatina, lovastatina)
- Psicofármacos
  - Antidepresivos tricíclicos (imipramina, amitriptilina)
  - Paroxetina
  - Clorpromacina
- Varios
  - AMIODARONA (efecto tardío)
  - Sulfonilureas (clorpropamida, tolbutamida, glibenclamida)
  - Antagonistas H_2 (cimetidina, ranitidina)
  - Omeprazol
  - Tiroxina
  - Tamoxifeno
  - Disulfiram

INHIBIDORES
- RIFAMPICINA
- BARBITÚRICOS
- CARBAMACEPINA
- RITONAVIR
- Fenitoína
- Resinas de intercambio iónico (colestiramina, colestipol)
- Griseofulvina
- Aminoglutetimida
- Ciclosporina A
- Ticlopidina
- Suplementos dietéticos que aporten vitamina K.

*Algunos antiinflamatorios como el diclofenaco y la nabumetona, tienen escaso efecto potenciador en las dosis habituales, pero pueden dar lugar a sangrado gástrico, por lo que se aconseja asociarlos con antagonistas H2 u omeprazol.
Los nombres escritos en mayúsculas son lo que producen mayor interferencia.

una lista de los principales potenciadores e inhibidores. Su inclusión no significa que estén formalmente contraindicados durante el tratamiento con cumarínicos. Si es necesaria su administración, hay que limitarse a establecer controles analíticos más frecuentes. En algunos casos la acción potenciadora o inhibidora puede ser escasa o inconstante pero, a pesar de ello, es prudente realizar controles frecuentes durante las primeras semanas de su administración.

Deben evitarse, en cualquier caso, las inyecciones intramusculares, sea cual sea el medicamento inyectado, ya que pueden dar lugar a hematomas importantes.

Alimentación y alteraciones digestivas

Se debe recomendar al paciente que avise a su centro de control si va a iniciar algún tipo de dieta, para que se realicen visitas más frecuentes hasta lograr una nueva estabilización del tratamiento. También debe advertírsele de que algunos alimentos son especialmente ricos en vitamina K, como las verduras, especialmente las espinacas o la col, por lo que debe moderarse su ingesta, aunque no parece estar justificada su prohibición, pero sí recomendar regularidad en la dieta. Es aconsejable evitar los preparados de herboristería, ya que algunos interfieren con la anticoagulación oral.

Las bebidas alcohólicas en cantidades importantes dificultan el control del tratamiento y pueden llegar a hacerlo imposible. El paciente puede seguir bebiendo vino o cerveza en pequeñas cantidades acompañando a las principales comidas, si tenía costumbre de hacerlo, pero debe evitar los licores.

La diarrea interfiere en el tratamiento con cumarínicos por alteración de la flora intestinal y dificultar la absorción de la vitamina K. El paciente debe saber que, en caso de diarrea de más de dos días de duración, debe adelantar su fecha de control.

Utilidad clínica

Los anticoagulantes orales han demostrado su eficacia en la prevención de la recidiva del tromboembolismo venoso, para lo que se requiere una duración del tratamiento no inferior a tres meses en episodios secundarios a cirugía o traumatismo, y probablemente mayor en los esenciales, requiriéndose una valoración individualizada de cada caso, que incluya una investigación de posibles causas de trombofilia congénita o adquirida y una evaluación hemodinámica del miembro afectado. En la ETEV recidivante el tratamiento será a largo plazo. La warfarina se ha mostrado también eficaz y relativamente segura en la prevención postoperatoria de la ETEV en pacientes de alto riesgo, especialmente en cirugía ortopédica; sin embargo, estos resultados pueden no ser aplicables a la acenocumarina, dados los diferentes tiempos de respuesta de dichos fármacos.

La principal aplicación de los cumarínicos, en términos de población, es la prevención del embolismo de origen cardíaco, especialmente en pacientes con fibrilación auricular no valvular asociada con factores de riesgo (edad avanzada, hipertensión, embolismo previo, disfunción ventricular izquierda o dilatación auricular), con una eficacia que duplica la del AAS[44]. En menor medida, hay que incluir a los portadores de prótesis valvulares y a los aquejados de valvulopatía mitral asociada a fibrilación auricular, dilatación de la aurícula izquierda o embolismo previo, y a las miocardiopatías dilatadas. También han demostrado su eficacia en la prevención de la recidiva del IAM pero, en la práctica, para esta indicación se prefiere el AAS por temor a que el riesgo hemorrágico de los cumarínicos supere su beneficio. Las indicaciones y niveles terapéuticos recomendados internacionalmente se exponen en la tabla 38.11, considerándose suficiente un nivel de INR entre 2 y 3 en la mayoría de los casos. En las prótesis valvulares cardíacas mecánicas se recomienda actualmente un margen de 2,5-3,5. El nivel 3,0-4,5 recomendado anteriormente triplica el riesgo de hemorragia y no se considera justificado. En caso de embolia, a pesar de correcta anticoagulación, se recomienda la asociación de AAS en dosis de 80 a 100 mg/día. Las bioprótesis val-

TABLA 38.11

Indicaciones y niveles terapéuticos para el tratamiento con cumarínicos

Indicación	Condiciones y duración	INR
Profilaxis de la ETEV	Cirugía de alto riesgo (ortopédica) (experiencia con warfarina no extrapolable a acenocumarina)	2,0-3,0
Tratamiento de la TVP y del TEP	Mínimo 3 meses en TVP secundaria Valoración individualizada en TVP o TEP esenciales Largo plazo en caso de recidiva	2,0-3,0
Fibrilación auricular no valvular	Asociada a edad > 65 años, embolia previa, historia de hipertensión, IAM, ICC, disfunción ventricular izquierda o dilatación de aurícula izquierda Largo plazo	2,0-3,0
Valvulopatía mitral	Asociada a fibrilación auricular, dilatación de la aurícula izquierda o embolia previa Largo plazo	2,0-3,0
Miocardiopatía dilatada	Con ICC o embolia previa Largo plazo.	2,0-3,0
Bioprótesis valvulares cardíacas	Tres meses tras su implantación Largo plazo si se asocian embolia previa o fibrilación auricular	2,0-3,0
Prótesis valvulares mecánicas	Largo plazo en todos los casos	2,5-3,5
IAM: prevención de la recurrencia	Habitualmente se prefiere aspirina Largo plazo	2,5-3,5

ETEV: enfermedad tromboembólica venosa; TVP: trombosis venosa profunda;
TEP: tromboembolismo pulmonar; IAM: infarto agudo de miocardio; ICC: insuficiencia cardíaca congestiva.

vulares deben recibir anticoagulación durante 3 meses (INR: 2-3), excepto cuando se asocien factores de riesgo, como embolismo previo o fibrilación auricular, en cuyo caso la indicación será a largo plazo.

Efectos adversos

Su principal efecto secundario es la hemorragia. Analizaremos brevemente las pautas de actuación para su tratamiento aceptadas en nuestro medio[45].

Hemorragias que pongan en peligro la vida del paciente (hemorragias intracraneales, sangrado digestivo grave)

Se corregirá de inmediato el defecto coagulativo mediante transfusión de concentrado protrombínico en dosis de alrededor de 20-40 U/kg, según el nivel de anticoagulación y la gravedad del cuadro, para obtener un valor de INR no superior a 1,3. Se puede administrar a la vez alguna unidad de plasma fresco, pero teniendo en cuenta que su eficacia es mucho menor y, como única terapéutica, se requerirían volúmenes que representarían una sobrecarga cardiocirculatoria, especialmente en los pacientes con insuficiencia cardíaca. Simultáneamente, se administrarán 10 mg de vitamina K_1 intravenosa, que se repetirán 6 horas después. En estos casos la anticoagulación deberá suspenderse y no se sustituirá por heparina en dosis profilácticas hasta que haya pasado el riesgo de hemorragia grave.

Hemorragias importantes pero no peligrosas para la vida del paciente

Se consideran hemorragias importantes las que requieren ingreso para su control, como el sangrado digestivo controlable, hematuria grave, o hematomas importantes pero en localizaciones no peligrosas. Se administrará concentrado protrombínico (y plasma fresco) hasta lograr un valor de INR no superior a 1,5. Se debe administrar vitamina K_1 y suspender la anticoagulación, como en el caso anterior. Cuando la hemorragia esté controlada, se considerará la posibilidad de administrar heparina profiláctica hasta que el INR alcance nivel terapéutico, especialmente en pacientes de alto riesgo tromboembólico.

Manifestaciones hemorrágicas menores (epistaxis no importante o hematuria leve)

Si el cuadro está justificado, se reducirá o suspenderá la anticoagulación 1 o 2 días (hasta que ceda el sangrado), continuando luego con la dosis ambulatoria. Administrar vitamina K_1 5 mg oral o 2 mg i.v., en caso de prolongación excesiva del INR o si la importancia de la hemorragia lo justifica, pero teniendo en cuenta que interferirá con el tratamiento anticoagulante si éste se reanuda de inmediato.

Necrosis cutánea inducida por cumarínicos

Es una complicación importante del tratamiento anticoagulante oral (TAO), pero muy poco frecuente: 0,01% de los pacientes. Se presenta como necrosis de la piel y del tejido subcutáneo subyacente, especialmente en el tronco, afectando zonas con abundante panículo adiposo, como nalgas, zona anterior del abdomen, mamas, pero también en brazos y piernas. Las lesiones aparecen a los 3-6 días después del inicio del TAO, atribuyéndose a una alteración del balance coagulación/anticoagulación. Parece estar especialmente asociado al déficit congénito de proteína C inhibidora[46], la cual sufriría una marcada reducción de nivel en los primeros días de la administración del cumarínico, que no estaría equilibrado por una reducción similar de los factores de coagulación dependientes de la vitamina K, debido a que la vida media de la proteína C es mucho más corta que la de dichos factores, con excepción del factor VII. Una vez superada esta fase de inducción del TAO, se equilibran los niveles de proteína C y de los factores, y no se produce esta complicación. También se ha descrito asociada con déficit de proteína S y en pacientes con la mutación del factor V Leiden. En un número importante de casos no se ha detectado una anomalía que la justifique.

La mejor forma de prevenir la aparición de estos cuadros es evitar las dosis de carga en la fase de inducción del TAO, utilizando, como se ha dicho anteriormente, dosis cercanas a la dosis media de mantenimiento de la población.

Otros efectos adversos

Ocasionalmente, se observan reacciones alérgicas cutáneas que pueden ser tratadas con antihistamínicos o sustituyendo la acenocumarina por warfarina (o viceversa). Algunos pacientes presentan caída excesiva del cabello.

Inhibidores específicos de la trombina

En este apartado se incluyen la hirudina y algunos péptidos sintéticos. Se caracterizan por no precisar de la colaboración de la antitrombina ni de ninguna otra molécula para expresar su acción, y son más eficaces que las heparinas en la neutralización de la trombina unida a la fibrina. Las hirudinas naturales son un conjunto de polipéptidos de una sola cadena, con diferentes aminoácidos en el extremo N-terminal, producidos por la sanguijuela (*Hirudo medicinalis*).

Hirudina recombinante (r-Hirudina)

Se puso especial esperanza en su papel dentro de la terapéutica del IAM, la angina inestable y en el intervencionismo coronario, que no se vio confirmada en los estudios clínicos, y no existe en la actualidad indicación para su uso fuera del tratamiento de la trombocitopenia inducida por heparina tipo II, ya comentado, en la que se emplea el análogo lepidurina[36].

Bivalirudina (hirulog)

Es un péptido sintético de 20 aminoácidos derivado de la hirudina, que bloquea la trombina de forma reversible, con una vida media de sólo 24 minutos. Su utilización es actualmente escasa, habiendo mostrado una eficacia similar a la de la heparina en el intervencionismo coronario percutáneo[47].

Melagatran-ximelagatran

Dentro del grupo de péptidos sintéticos que actúan como inhibidores de la trombina, merece especial interés el melagatran, que se administra por vía subcutánea, o su precursor inactivo ximelagatran, que se administra por vía oral. Su vida media permite la administración cada 12 horas, y su efecto es predecible en función de la dosis. No se une a las proteínas plasmáticas, y se elimina por vía renal; por todo ello no precisa control analítico para su administración. Tampoco presenta efectos potenciadores o inhibidores por parte de fármacos dependientes del citocromo P450. Hay que señalar que carece de antídoto específico para neutralizar su efecto.

El ximelagatran ha mostrado similar eficacia que la HBPM o la warfarina[48] en la prevención de la TVP en cirugía ortopédica, en dosis de 24-36 mg/12 h. También se ha demostrado su utilidad para el tratamiento de la fase aguda y la fase inicial de profilaxis secundaria de la ETEV (dosis de 36 mg/12 h), y en su prevención secundaria a largo plazo (dosis de 24 mg/24 h)[49].

El ximelagatran ha sido evaluado, en dosis de 36 mg/12 h, en la prevención de las embolias sistémicas en pacientes con fibrilación auricular, como alternativa a los cumarínicos. Los resultados de un primer estudio de grandes dimensiones (SPORTIF III)[50] muestran igual incidencia de ictus isquémico y de accidentes hemorrágicos graves para ambos tratamientos, pero con una elevación asintomática de enzimas hepáticas más frecuente en el grupo tratado con ximelagatran, con niveles que superaban el triple del límite superior de referencia en el 6% de los pacientes, frente al 1% en los tratados con warfarina. La elevación aparece especialmente entre los 2 y 6 meses del inicio del tratamiento (afecta sólo a tratamientos de larga duración), y retorna a los valores normales espontáneamente o tras suspender la medicación; no deja secuelas. Otro gran estudio sobre el mismo tipo de pacientes (SPORTIF V) está pendiente de publicación, siendo los resultados presentados similares a los del anterior. Las indudables ventajas que presenta este fármaco con respecto a los cumarínicos (dosis fija sin necesidad de control analítico, ausencia de interferencias por fármacos o por cambios en la dieta) podrían verse matizadas por las consecuencias de la elevación de las enzimas hepáticas en determinados grupos de pacientes.

TROMBOLÍTICOS

La medicación trombolítica tiene por objeto la lisis del trombo ya formado, lo que permitirá la reperfusión de los tejidos isquémicos. Los fármacos trombolíticos actúan activando el plasminógeno a plasmina. Los llamados de primera generación poseen muy escasa afinidad por la fibrina, por lo que dicha activación tiene lugar a nivel plasmático, donde la plasmina formada llegará a agotar a la antiplasmina circulante y se producirá un estado lítico sistémico que, además de lisar el trombo, dará lugar a una marcada alteración de la hemostasia, ya que la plasmina degradará al fibrinógeno y a otras proteínas, como los factores V, VIII, XIII y Von Willebrand (fig. 38.4). Por el contrario, los trombolíticos de segunda generación presentan alta afinidad por la fibrina, produciéndose la activación del plasminógeno predominantemente dentro del complejo activador-plasminógeno-fibrina. La plasmina formada en estas condiciones tiene los llamados puntos de unión a la lisina, que permiten la fijación tanto a la fibrina como a la antiplasmina, ocupados por la primera, por lo que su neutralización por la segunda será muy lenta (fig. 38.5). Este meca-

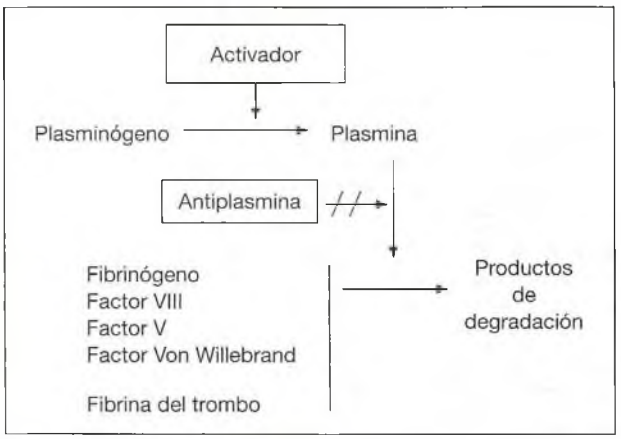


Figura 38.4. La fibrinólisis sistémica requiere elevadas concentraciones de activador que den lugar a una cantidad de plasmina suficiente para agotar la antiplasmina del plasma. A partir de este momento, la plasmina destruye el fibrinógeno y algunos factores en el plasma, además de la fibrina del trombo.

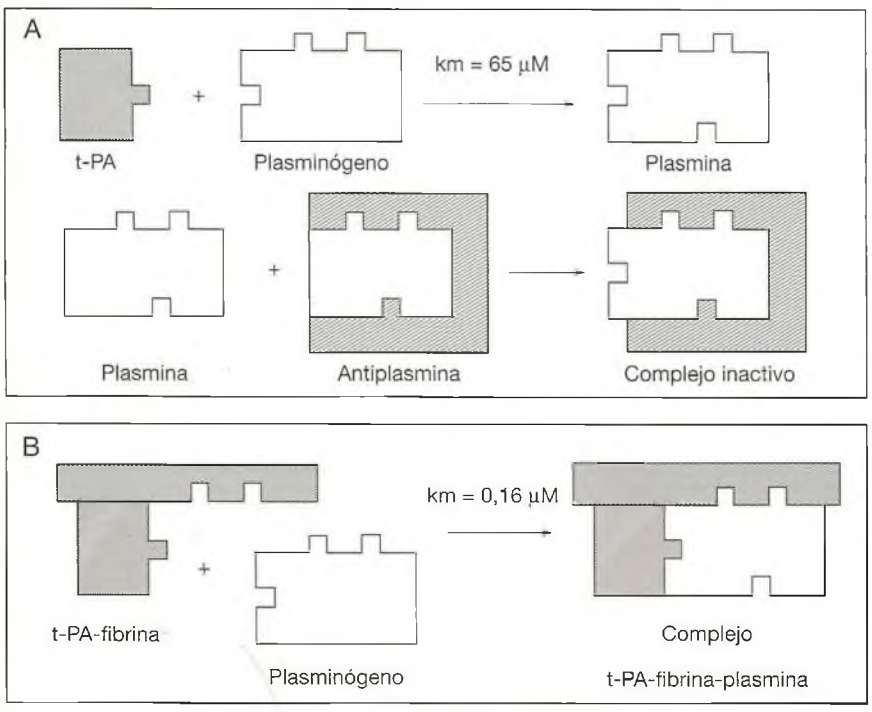


Figura 38.5. *a*) El t-PA posee escasa afinidad por el plasminógeno en el plasma y la plasmina que llegue a formarse como consecuencia de su activación será inmediatamente neutralizada por la antiplasmina. *b*) Cuando el t-PA activa al plasminógeno en el seno del complejo ternario activador-fibrina-plasminógeno, la afinidad entre ambos es muy alta, y la plasmina formada no puede ser neutralizada por la antiplasmina hasta que finalice la lisis de la fibrina.

nismo permite una lisis sistémica menor y una eficacia trombolítica, al menos teóricamente, superior.

Otros datos distintivos entre los diversos fármacos, aparte de su especificidad para la fibrina y la importancia de la alteración hemostática inducida, son su antigenicidad y su vida media (tabla 38.12)[51,52].

Trombolíticos de primera generación

Estreptocinasa (SK)

Es un polipéptido de una sola cadena, no enzimático, producido por algunas cepas de estreptococo hemolítico. Se une al plasminógeno formando un complejo activador, capaz de activar a otras moléculas de plasminógeno, transformándolas en plasmina. La vida media de su actividad es de unos 20 minutos, y da lugar a un importante estado lítico que suele conducir a la práctica desaparición del fibrinógeno circulante. Es antigénica por su origen bacteriano, lo que limita su posterior administración al mismo paciente.

Complejo activador plasminógeno-estreptocinasa acilado (APSAC o anistreplasa)

Es un complejo equimolecular de SK y plasminógeno, en el que éste se halla en forma inactiva por acilación, la cual es progresivamente reversible tanto en la circulación como sobre la superficie de la fibrina. La vida media de la actividad fibrinolítica es de 90 a 110 minutos. La actividad lítica sistémica es similar o superior a la de la SK sola y, como ella, tiene efecto antigénico. Su interés clínico se basaba en ser el primer trombolítico administrable en forma de bolos i.v. lo que le convirtió en adecuado para su uso en unidades de urgencia, aunque en la actualidad, prácticamente, no se utiliza.

Urocinasa (UK)

Se denomina así a la forma bicatenaria del activador del plasminógeno de tipo urocinasa (tcu-PA), que es una sustancia natural eliminada por la orina, de la que se puede extraer, obteniéndose actualmente por método recombinante. No posee afinidad específica por la fibrina, activando tanto al plasminógeno circulante como al unido a fibrina, aunque el estado lítico sistémico a que da lugar es más moderado que el inducido por la SK. También es más corta su vida media, y no tiene actividad antigénica al tratarse de un producto de origen humano.

Prourocinasa (seruplasa)

Es el activador del plasminógeno de tipo urocinasa monocatenario (scu-PA) o forma nativa de la UK, y para su uso clínico se obtiene como proteína recombinante. No activa al plasminógeno plasmático, pero sí al que se halla unido a la fibrina, aunque no tiene especial afinidad para unirse a ella. Como la UK, tiene una corta vida media. Su utilización clínica es escasa.

Trombolíticos de segunda generación

Alteplasa (rt-PA)

Es la forma recombinante del activador tisular del plasminógeno, predominantemente monocatenaria. Presenta una vida media de sólo 5 minutos, por lo que debe ser administrada en perfusión continua.

Es una proteína recombinante típica de segunda generación, con alta afinidad por la fibrina, aunque las dosis elevadas utilizadas en la terapéutica fibrinolítica dan lugar a que la activación sistémica no sea despreciable, si bien bastante más moderada que la inducida por la estreptocinasa. Sin embargo, la menor actividad fibrinolítica sistémica no ha disminuido sus complicaciones hemorrágicas, especialmente las intracraneales, con respecto a otros fármacos como la estreptocinasa.

Reteplasa (r-PA)

Es una forma truncada de rt-PA por mutación, en la que se han eliminado tres dominios de la molécula, uno de ellos importante en la afinidad a la fibrina, por lo que ésta es menor que la de alteplasa. También la actividad fibrinolítica sistémica y la depleción de fibrinógeno son mayores que las inducidas por ésta. Su única ventaja es poseer una vida media de unos 15 minutos, lo cual permite su administración en bolos.

Tenecteplasa (TNK-tPA)

Es un derivado de rt-PA mediante sustitución de seis aminoácidos en tres puntos de la molécula. Presenta mayor afinidad por la fibrina que la de alteplasa, con una reducción de fibrinógeno y plasminógeno plasmáticos menores. Su vida media, de unos 20 minutos, ha permitido su administración en forma de bolo único.

Estafilocinasa

Es producida por el estafilococo áureo y obtenida como proteína recombinante, con una vida media de unos 30 minutos

TABLA 38.12

Características de los fármacos trombolíticos

Fármaco	Origen	Vida media (min)	Lisis sistémica	Afinidad por la fibrina	Antigenicidad
Estreptocinasa	Bacteriano	20	+ + +	+	Sí
Urocinasa	Renal o recombinante	15	+ +	+	No
Prourocinasa (seruplasa)	Recombinante	8	+	+ +	No
Alteplasa (rt-PA)	Recombinante	6	+ / + +	+ + + +	No
Reteplasa (r-PA)	Recombinante	15	+ +	+ +/ + + +	No
Tenecteplasa (TNK-tPA)	Recombinante	20	+	+ + + +	No
Estafilocinasa	Recombinante	30	–	++++	Sí

y una alta afinidad por la fibrina, sin inducir prácticamente lisis sistémica. Parece posible reducir su antigenicidad mediante pequeñas modificaciones en su molécula, y se ha obtenido una variante que contiene polietilenglicol unido a su molécula, lo que prolonga su vida media y permite la administración en bolo único. A pesar de sus prometedores resultados iniciales, no se han desarrollado estudios de dimensiones adecuadas que justifiquen su utilización.

Indicaciones de la terapéutica trombolítica

Se hallan resumidas en la tabla 38.13.

Infarto agudo de miocardio con elevación ST

Es la indicación de trombólisis con más amplia aceptación, obteniéndose una clara reducción de la mortalidad (20-50%) administrando alteplasa, sus derivados (reteplasa, tenecteplasa) o SK, y asociando en todos los casos con AAS[53].

La alteplasa ofrece resultados ligeramente superiores en el intervalo entre 6 y 12 horas del cuadro con respecto a la SK[54], y ha demostrado una reducción del 14% en la mortalidad global a los 30 días con respecto a ella (nueve vidas por cada 1.000 pacientes tratados)[55]. Se administra en forma de pauta acelerada de unos 100 mg en 90 minutos (un bolo i.v. de 15 mg seguido de una perfusión de 0,75 mg/kg en 30 minutos (sin sobrepasar los 50 mg), y de 0,5 mg/kg en 60 minutos (sin sobrepasar los 35 mg). Precisa de la administración simultánea de heparina en dosis terapéuticas, para evitar la reoclusión coronaria precoz.

La tenecteplasa presenta mejores resultados en pacientes con más de 4 horas de evolución que la alteplasa, atribuibles a su mayor afinidad por la fibrina. También las complicaciones hemorrágicas extracraneales y las intracraneales en pacientes mayores de 75 años son significativamente menores con ella.

La SK se administra mediante una perfusión de 1,5 millones de U en 1 hora. El beneficio terapéutico es muy bajo pasadas las 6 horas del comienzo de los síntomas.

Tromboembolismo pulmonar

El TEP de pequeñas dimensiones o submasivo presenta una mortalidad escasa y no se ha demostrado una mejor evolución clínica a medio o largo plazo después de un tratamiento trombolítico, por lo que éste no se considera justificado. Por el contrario, el TEP masivo con grave afectación hemodinámica presenta una alta mortalidad y, dado que la mejoría hemodinámica obtenida en las primeras 24 horas es muy superior con los trombolíticos que con la heparina[56], se acepta que la administración de aquéllos está indicada con objeto de reducir la mortalidad, aunque no se disponga de estudios de tamaño y diseño adecuados que lo demuestren.

Dado que el objetivo del tratamiento es lograr una rápida mejoría hemodinámica, y que ésta es relativamente lenta con las pautas de administración clásicas de UK o SK en perfusión continua durante 12 o 24 horas, se han utilizado otras aproximaciones terapéuticas, como la administración de 100 mg de rt-PA, en forma de perfusión durante 2 horas[57], o de urocinasa en perfusión acelerada de sólo 2 horas, en dosis de 1 a 3 millones de UI, con buenos resultados en la mejoría angiográfica precoz.

Oclusión arterial aguda

En la trombosis o embolia arterial aguda periférica o en la trombosis de sus injertos protésicos tampoco existe literatura adecuada que respalde la terapéutica trombolítica, pero hay evidencia clínica de que con las pautas de administración local (con el catéter enclavado en el trombo) de urocinasa en dosis de 4.000 UI/min hasta la recanalización parcial, continuando luego con 2.000 UI/min hasta la lisis completa[58],

TABLA 38.13

Indicaciones, fármacos y posología en la terapéutica trombolítica

Indicación	Condiciones	Fármacos	Dosis
IAM*	Con elevación ST en 2 o más derivaciones Dentro de las 6 (o 12)** primeras horas	Alteplasa	Hasta 100 mg en 90 minutos Precisa HNF en dosis terapéuticas
		Tenecteplasa	Bolo de 30 a 50 mg (según peso) Precisa HNF en dosis terapéuticas
		Reteplasa	2 bolos de 10 U Precisa HNF en dosis terapéuticas
		Estreptocinasa	1.500.000 U en 1 h
TEP	Formas masivas (ocupación vascular > 50%) con shock o inestabilidad hemodinámica	Alteplasa	100 mg en 2 h
		Urocinasa	1 a 3 millones de UI en 2 h
Oclusión arterial aguda	Difícil abordaje o malos resultados quirúrgicos	Urocinasa	4.000 U/kg/h hasta la recanalización 2.000 U/kg/h hasta la lisis completa
	Precisa administración local con catéter enclavado en el trombo	Alteplasa	0,05 a 0,10 mg/kg/h durante 8 h
Ictus isquémico agudo	Dentro de las 3 primeras horas	Alteplasa	0,9 mg/kg en 60 min
TVP	Trombosis masivas (flegmasia)	Estreptocinasa	250.000 U en 10 min 100.000 U/h × 48-72 h

TVP: trombosis venosa profunda; TEP: tromboembolismo pulmonar; IAM: infarto agudo de miocardio; ICP: intervencionismo coronario percutáneo.

*AAS alrededor de 160 mg/día, asociada en todos los casos.

**No en caso de usar estreptocinasa.

o de rt-PA en dosis de 0,05 a 0,1 mg/kg/h durante 8 a 12 horas[59], se obtienen resultados satisfactorios cuando las posibilidades de cirugía son escasas, evitándose en ocasiones la amputación.

Ictus isquémico agudo

En un estudio americano[60], la administración de alteplasa (0,9 mg/kg en 60 minutos) en el ictus isquémico agudo, dentro de las 3 primeras horas de su presentación, dio lugar, a los 3 meses, a una mejoría clínica en la evolución de los pacientes tratados, pero sin diferencias en la mortalidad y con mayor incidencia de hemorragia cerebral. Por el contrario, dos estudios europeos con un margen de inclusión hasta las 6 horas de evolución no han logrado reproducir este beneficio[61], por lo que 3 horas sería el tiempo límite en la evolución del paciente para la administración de alteplasa por vía intravenosa.

Trombosis venosa profunda

La indicación de trombólisis en la TVP de las extremidades inferiores es poco aceptada actualmente, ya que si bien se pueden obtener buenos resultados flebográficos, no está claro que por ello se prevenga el desarrollo del síndrome postrombótico ni que se reduzca el riesgo de TEP, por lo que el balance entre riesgo y beneficio no sería aceptable en este caso. Constituyen una excepción las trombosis masivas con riesgo de gangrena.

Efectos adversos

El principal efecto secundario de la terapéutica trombolítica es la hemorragia. Para su prevención deben respetarse las contraindicaciones, especialmente las absolutas y mayores que figuran en la tabla 38.14. La SK da lugar a un 0,5% de hemorragias mayores y a un 0,1% de hemorragia cerebral en los grandes estudios sobre IAM, mientras que la alteplasa, en pauta acelerada y asociada a heparina, alcanzó una incidencia de ictus hemorrágico del 0,72%.

En caso de complicación hemorrágica grave se suspenderá el tratamiento trombolítico y el anticoagulante asociado si existiera, se procederá a neutralizar la actividad fibrinolítica mediante la administración de ácido tranexámico (0,5-1,0 g i.v.) y se tratará de restablecer la hemostasia, en caso de deterioro importante, mediante la administración de concentrados de fibrinógeno y de plasma fresco.

TABLA 38.14

Contraindicaciones de la terapéutica trombolítica

Contraindicaciones absolutas
- Hemorragia interna activa
- Antecedentes de hemorragia cerebral
- Accidente cerebrovascular no hemorrágico, cirugía u otro proceso activo intracraneal en los 2 últimos meses

Contraindicaciones mayores
- Cirugía mayor, parto, biopsia visceral o punción previa de vasos no compresibles, en los últimos 15 días
- Sangrado gastrointestinal importante y reciente
- Trauma importante y reciente
- Hipertensión arterial severa no controlada

Contraindicaciones menores
- Trauma menor reciente, incluida la resucitación cardiopulmonar
- Alta probabilidad de trombosis en corazón izquierdo
- Endocarditis bacteriana
- Defectos hemostáticos, incluidos los asociados a enfermedad hepática o renal severa
- Embarazo
- Retinopatía diabética hemorrágica
- Tratamiento anticoagulante oral: debe ser corregido antes de iniciar la trombólisis

BIBLIOGRAFÍA

1. Smith WL, Garvito M, DeWitt DL. Prostaglandin endoperoxide H sintases (cyclooxigenases)-1 and –2. J Biol Chem 1996; 271:33157-33160.
2. Patrono C. Aspirin as an antiplatelet drug. N Engl J Med 1994; 330: 1287-1294.
3. Taylor DW, Barnet HJM, Haynes RB, et al. Low-dose and high-dose acetylsalicylic acid for patients undergoing carotid endarterectomy: a randomised controlled trial. Lancet 1999; 353:2179-2184.
4. Roderick PJ, Wilkes HC, Meade TW. The gastrointestinal toxicity of aspirin: an overview of randomised controlled trials. Br J Clin Pharmacol 1993; 35:219-226.
5. ISIS-2 Collaborative Group. Randomised trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both or neither among 17,187 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-2. Lancet 1988; 2:349-360.
6. Brott T, Bogousslavsky J. Treatment of acute ischemic stroke. N Engl J Med 2000; 343:710-722.
7. Antiplatelet Trialists' Collaboration. Collaborative overview of randomised trials of antiplatelet therapy. I: Prevention of death, myocardial infarction, and stroke by prolonged antiplatelet therapy in various categories of patients. BMJ 1994; 308:81-106.
8. Fuster V, Ryden LE, Asinger RW, et al. ACC/AHA/ESC Guidelines for the Management of Patients With Atrial Fibrillation: Executive Summary A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines and Policy Conferences (Committee to Develop Guidelines for the Management of Patients With Atrial Fibrillation) Developed in Collaboration With the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Circulation 2001; 104:2118-2150.
9. Antiplatelet Trialists' Collaboration. Collaborative overview of randomised trials of antiplatelet therapy. III: Reduction in venous thrombosis and pulmonary embolism by antiplatelet prophylaxis among surgical and medical patients. BMJ 1994; 308:235-246.
10. Ramis J, Mis R, Forn J, Torrent J, Gorina E, Jane F. Pharmacokinetics of triflusal and its main metabolite HTB in healthy subjects following a single oral dose. Eur J Drug Metab Pharmacokinetic 1991; 16:269-273.
11. Cruz-Fernández JM, López-Bescos L, García-Dorado D, et al. Randomized comparative trial of triflusal and aspirin following acute myocardial infarction. Eur Heart J 2000; 21:457-465.
12. Matias-Guiu J, Ferro JM, Álvarez-Sabin J et al. TACIP Investigators. Comparison of triflusal and aspirin for prevention of vascular events in patients after cerebral infarction: the TACIP Study: a randomized, double-blind, multicenter trial. Stroke 2003; 34:840-848.
13. Haas WK, Easton JD, Adams HP Jr, et al. A randomized trial comparing ticlopidine hydrochloride with aspirin for the prevention of stroke in high-risk patients. N Engl J Med 1989; 321:501-507.
14. CAPRIE Steering Committee. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischemic events (CAPRIE) Lancet 1996; 348:1329-1339.
15. Bertrand ME, Rupprecht HJ, Urban P, Gershlick AH, Investigators FT. Double-blind study of the safety of clopidogrel with and without a

CAPÍTULO 39

Trasplante de progenitores hematopoyéticos

E. Carreras y C. Rozman

ÍNDICE

Introducción histórica
Fundamento
Tipos de TPH
- Relación genética donante-receptor
- Origen de los progenitores
- Intensidad del tratamiento de acondicionamiento

Indicaciones
- TPH alogénico
- TPH autogénico

Técnica del trasplante
- Preparación del receptor
- Obtención de los progenitores hematopoyéticos
- Tratamiento *ex vivo* del inóculo
- Administración de los progenitores

Demostración del injerto
Complicaciones
- Toxicidad precoz del tratamiento de acondicionamiento
- Complicaciones infecciosas
- Complicaciones de origen inmunológico
- Alteraciones inmunológicas
- Complicaciones tardías del TPH

Inmunoterapia celular
Resultados
Bibliografía

INTRODUCCIÓN HISTÓRICA

En el año 1957, el profesor Donald Thomas (Premio Nobel, 1990) publicó sus primeras experiencias sobre el empleo de quimiorradioterapia intensiva seguida de la infusión intravenosa de médula ósea en el tratamiento de pacientes con leucemia aguda. Un año después, el profesor Georges Mathé administró médula ósea por vía intravenosa a las víctimas de un accidente nuclear. Estos primeros trasplantes permitieron observar que la médula ósea administrada podía implantar y reconstituir la hematopoyesis del receptor, pero las investigaciones tuvieron que interrumpirse, ya que todos los pacientes fallecieron por infecciones intercurrentes o por un cuadro clínico hasta entonces desconocido que se denominó enfermedad secundaria. En la década siguiente se desarrollaron diversas medidas de soporte eficaces para mantener a pacientes con pancitopenias extremas y prolongadas; el profesor Jean Dausset (Premio Nobel, 1980) descubrió el sistema mayor de histocompatibilidad; y la experimentación animal mostró que sólo sobrevivían los animales que recibían progenitores de un donante con identidad en el complejo mayor de histocompatibilidad. Con todos estos avances, en 1968, en Minneapolis, pudo efectuarse con éxito el que se considera primer trasplante de médula ósea de la era moderna, en el que un paciente afectado de una inmunodeficiencia congénita recibió médula ósea de un hermano con antígeno de histocompatibilidad (HLA) idéntico. A partir de esta fecha, los progresos en esta modalidad terapéutica han sido constantes, y en nuestros días el trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) es una de las mejores opciones terapéuticas y, en ocasiones, el tratamiento de elección de diversas enfermedades hematológicas[1].

FUNDAMENTO

En sus orígenes, el objetivo de todo TPH era la sustitución de una celularidad hematopoyética neoplásica o malfuncionan-

te por otra normal procedente de la médula ósea de un donante compatible (TPH alogénico). Para lograrlo, se creía que era necesario que el paciente recibiera un tratamiento de preparación (o de acondicionamiento) con dosis altas de radiaciones ionizantes y/o fármacos citotóxicos, con la finalidad de: erradicar la población anómala causante de la enfermedad, inmunodeprimir al paciente para que su sistema inmunitario no rechazara a los nuevos progenitores hematopoyéticos, y crear espacio en la médula ósea para que éstos pudieran anidar. En la actualidad, se sabe que no es necesario que el tratamiento de acondicionamiento cumpla los tres objetivos antes citados ya que, si se administra un tratamiento inmunodepresor potente, que evite el rechazo del injerto y prepare el microambiente medular, se puede lograr el implante de los progenitores hematopoyéticos y la progresiva sustitución de la hematopoyesis del paciente por la del donante, sin necesidad de emplear agentes citotóxicos que erradiquen la hematopoyesis del receptor o creen espacio en la médula ósea. Los trasplantes basados en este principio reciben la denominación de trasplantes con acondicionamiento de intensidad reducida (TIR)[2].

A pesar de que no se trate de un verdadero trasplante, se admite como tal el empleo de progenitores hematopoyéticos del propio paciente (TPH autogénico) como forma de «rescate» de la toxicidad medular producida por las cada vez más altas dosis de quimiorradioterapia empleadas para el tratamiento de determinadas neoplasias hematológicas y tumores sólidos[3,4].

En cualquiera de sus modalidades, el trasplante hematopoyético puede realizarse gracias a la capacidad de las células progenitoras de la médula ósea de generar una hematopoyesis completa. Esta población celular, que representa menos del 1% de la celularidad total, está formada por progenitores muy inmaduros, con gran capacidad de autorrenovación –las células germinales o *stem cells*–, y otros más maduros –los llamados precursores–, que tienen características propias de la línea celular mieloide o linfoide a la que darán lugar. La práctica totalidad de las células que tienen capacidad para generar hematopoyesis presenta en su membrana una molécula que es reconocida por los anticuerpos monoclonales (AcMo) del grupo CD34. De ahí que sean casi sinónimos los términos «progenitores hematopoyéticos» y «células CD34+». La infusión al paciente de un número relativamente pequeño de células CD34+ (aproximadamente, 3×10^6 por kg del paciente), es suficiente para restaurar la hematopoyesis eliminada por los fármacos citotóxicos y/o radiaciones ionizantes[5].

En el TPH, además de los progenitores hematopoyéticos, se infunden otras células accesorias del donante. De ellas, las más importantes son los linfocitos T. Estas células inmunocompetentes son fundamentales para el éxito del trasplante alogénico. Por una parte, facilitan el implante de los progenitores al neutralizar a los linfocitos T residuales del receptor que podrían rechazar el inóculo infundido. Por otra, los linfocitos T del donante son capaces de reconocer antígenos menores de histocompatibilidad del receptor distintos a los del donante, y reaccionar contra los tejidos del paciente. Esta reacción, inicialmente conocida como enfermedad secundaria, fue finalmente denominada «enfermedad del injerto contra el huésped» (EICH), y es la causa más frecuente de morbilidad y mortalidad en el trasplante alogénico. Años después, al observarse que se producían menos recidivas leucémicas entre los receptores de un TPH alogénico, en especial si desarrollaban una EICH, que entre los receptores de un TPH autogénico, un TPH de un hermano gemelo univitelino o un TPH en el que se hubieran eliminado parcialmente los linfocitos[6], se llegó a la conclusión de que los linfocitos T también tenían la capacidad de eliminar las células leucémicas residuales (efecto injerto contra leucemia). Posteriormente, se observó que este efecto del injerto también se produce frente a otras células neoplásicas (efecto injerto contra tumor), que desempeña un papel fundamental en la curación de las neoplasias tratadas mediante un TPH alogénico, y que su papel es tanto o más importante que el efecto del propio régimen de acondicionamiento[7]. La existencia de este efecto permite que en los TIR, en los que no se emplean agentes citotóxicos en dosis altas, se pueda lograr la progresiva erradicación de la enfermedad de base.

TIPOS DE TPH

Se distinguen varios tipos de trasplante en función de la relación genética donante-receptor, el origen de los progenitores hematopoyéticos y la intensidad del tratamiento de acondicionamiento.

Relación genética donante-receptor

El TPH efectuado entre individuos de una misma especie recibe la denominación de *alogénico*. En ellos, a diferencia de los trasplantes de órganos, en los que existe una sola barrera inmunológica –el sistema inmunitario del receptor puede rechazar el órgano trasplantado–, existe, además, una segunda barrera propia de todo trasplante que incluye células inmunocompetentes (médula ósea, sangre periférica o de cordón umbilical, timo, hígado fetal), por lo que el tejido trasplantado puede reconocer como extrañas las células del receptor y desencadenar una EICH. El riesgo de que dicha reacción se produzca será menor cuanto mayor sea la similitud entre los sistemas HLA del donante y del receptor. Dicha similitud, o histocompatibilidad, es máxima entre hermanos que han heredado los mismos haplotipos de sus padres. Debido a las leyes de Mendel, la probabilidad de que dos hermanos sean histocompatibles es de tan sólo el 25%. En caso de tener más de un hermano, la probabilidad de tener uno que sea compatible se calcula por la fórmula: probabilidad = $1 - (0{,}75)^n$; en consecuencia, esta probabilidad cuando se tienen uno, dos, tres, cuatro o cinco hermanos es, respectivamente, del 25, 44, 58, 68 y 76%. El tamaño reducido de las familias en los países desarrollados hace que sólo el 30-35% de los enfermos tenga un hermano HLA-idéntico. En ocasiones (< 5%), es posible localizar algún familiar cercano con el mismo fenotipo HLA o con una única diferencia en un *locus*. En circunstancias muy especiales, se han empleado como donantes, familiares que únicamente comparten un haplotipo con el paciente (*TPH haploidéntico*).

Por todo ello, el 60-65% de los enfermos que precisan un TPH alogénico carecen de un donante familiar adecuado. En estos casos, cabe recurrir a la búsqueda de un *donante no emparentado* histocompatible entre los más de 9 millones de donantes voluntarios inscritos en los registros internacionales, o de una unidad de sangre de cordón umbilical criopreservada. La elevada morbilidad y mortalidad de esta modalidad de trasplante ha hecho que las autoridades sanitarias de

nuestro país exijan que se cumpla un mínimo de condiciones para poder iniciar una búsqueda internacional de donante no emparentado (tabla 39.1). En el supuesto de cumplirse, podrá activarse la búsqueda a través del Registro de Donantes de Médula Ósea (REDMO). La probabilidad actuarial de localizar un donante con la mínima compatibilidad exigida en nuestro país (identidad en los *loci* A y B, estudiada mediante métodos serológicos o de DNA de baja resolución, y en el *locus* DRB1, valorada con técnicas de DNA de alta resolución), se sitúa en el 70-80% a los 6 meses (fig. 39.1)[8]. Diversos estudios han evidenciado que los resultados de esta modalidad de trasplante mejoran notablemente si donante y receptor muestran identidad alélica (demostrable únicamente mediante técnicas de DNA de alta resolución) en los *loci* A, B, C y DRB1. Por ello, la mayor parte de centros de trasplante tienden a solicitar este grado de identidad, con lo que la probabilidad de localizar un donante compatible de estas características se reduce al 40%. Esta cuidadosa selección del donante, y diversas mejoras en el tratamiento de los pacientes durante el trasplante, han hecho que los resultados del TPH de donante no emparentado hayan mejorado notablemente en los últimos años. Hoy día, la probabilidad de supervivencia de los pacientes con edades inferiores a 40 a 45 años es comparable a la alcanzada en los TPH de un hermano HLA idéntico[9].

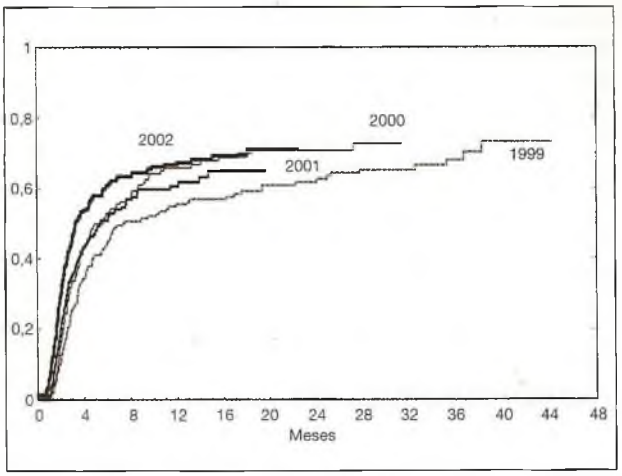


Figura 39.1. Probabilidad actuarial de localizar un donante con identidad HLA-A, B y DRB1 empleando técnicas de tipaje de baja resolución para HLA-A y B, y de alta resolución para DRB1, en función del año de inicio de la búsqueda (memoria anual Registro de Donantes de Médula Ósea [REDMO]).

TABLA 39.1

Requisitos para iniciar una búsqueda internacional de donante no emparentado en REDMO

Condiciones generales
- Edad ≤ 45 años
- Ausencia donante familiar compatible (HLA idéntico o con una única diferencia en los *loci* A o B –baja resolución–, o de DRB1 –alta resolución–)
- En enfermedades congénitas, ausencia de alteraciones neurológicas
- Resultados esperables superiores a los de otras terapias

Situación clínica/enfermedades neoplásicas

Al diagnóstico
- Leucemia mieloide crónica
- Síndromes mielodisplásicos con IPSS intermedio-2 o alto
- Leucemia mieloide aguda con: –5, 5q–, –7, 7q– o alteraciones del cromosoma 3
- Leucemia linfoide aguda con: t(9;22) o alteraciones 11q23
- Leucemia aguda posmielodisplasia
- Leucemia aguda secundaria

Durante la inducción a la remisión
- Leucemia aguda y necesidad de 2 o más ciclos de quimioterapia para alcanzar una remisión parcial (< 25% blastos médula ósea) o completa

En recaída
- Primera recaída si la primera remisión completa duró ≤ 12 meses
- Segunda recaída

Síndromes linfoproliferativos
- Si está incluido en estudio multicéntrico nacional o internacional

Enfermedades no neoplásicas
- Aplasia medular muy grave que no responda a inmunodepresión
- Enfermedades congénitas:
  - Anemia de Fanconi
  - Enfermedades eritrocitarias graves congénitas o hereditarias
  - Errores congénitos del metabolismo
  - Osteopetrosis
  - Inmunodeficiencias congénitas graves
  - Linfocitosis hemofagocítica

IPSS: índice pronóstico internacional.

Algunas situaciones clínicas no permiten demorar el trasplante el tiempo suficiente para localizar un donante de estas características. En estos casos, puede aceptarse un *donante no totalmente compatible*. Deberá intentarse que este donante tenga, como máximo, una única diferencia en los mencionados *loci* y que, si es posible, se trate de una diferencia alélica (demostrable únicamente mediante técnicas de DNA de alta resolución) y no antigénica (evidenciable mediante técnicas serológicas o de DNA de baja resolución). La posibilidad de localizar un donante con un grado de compatibilidad aceptable en un espacio de tiempo relativamente corto ha modificado las indicaciones para la realización de este tipo de trasplantes. Así, inicialmente, los grandes beneficiarios de esta modalidad terapéutica eran los pacientes con leucemia mieloide crónica en los que, por la lenta evolución de la enfermedad, se disponía de tiempo suficiente para localizar un donante compatible. Hoy día, la mayor parte de los TPH de donante no emparentado se efectúa en pacientes con leucemia aguda de alto riesgo (LLA Ph' positiva, LMA con alteraciones citogenéticas de mal pronóstico) o resistente al tratamiento de inducción o en recidiva[9].

Cuando el trasplante se realiza entre hermanos gemelos univitelinos u homocigotos, situación en la que no puede producirse un reconocimiento inmune entre donante y receptor, se denomina *singénico* o *isogénico*. Estos TPH, al igual que los autogénicos, tienen la ventaja de no poder desarrollar un rechazo del injerto o una EICH y, por la misma razón, el inconveniente de no disponer del beneficio del efecto injerto contra tumor.

El procedimiento consistente en la obtención de progenitores hematopoyéticos del propio paciente, conservarlos criopreservados y, finalmente, transfundirlos después de administrarle una dosis intensiva de quimiorradioterapia mieloablativa, se ha denominado tradicionalmente *TPH autogénico*, a pesar de no tratarse de un verdadero trasplante. Esta modalidad terapéutica comporta una menor morbilidad y mortalidad relacionada con el procedimiento (por ausencia de reacciones inmunológicas donante-receptor y la menor incidencia de complicaciones infecciosas), y una mayor incidencia de recidivas de la enfermedad de base (por ausencia del efecto injerto contra tumor). En la tabla 39.2 se indica la actividad en España y en Europa de cada una de estas modalidades de TPH[10,11].

Origen de los progenitores

Clásicamente, los TPH se efectuaban a partir de progenitores de *médula ósea* obtenidos mediante múltiples punciones-aspiración de las crestas ilíacas anteriores y posteriores[12]. Años más tarde, se observó que, en determinadas condiciones y de forma transitoria, podían movilizarse grandes cantidades de progenitores hematopoyéticos de la médula ósea a la *sangre periférica*. Una vez en ella, los progenitores podían ser recolectados mediante métodos de citoaféresis. Dicha movilización se produce tanto en la fase de recuperación de la aplasia que sigue a toda quimioterapia intensiva, como después de la administración de diversos factores de crecimiento hematopoyético. El más empleado es el factor estimulante de las colonias granulocíticas (G-CSF). Entre las ventajas que comportan los progenitores hematopoyéticos de sangre periférica (PHSP) destacan (tabla 39.3) su facilidad de obtención y una recuperación hematopoyética e inmunológica más rápida que con los progenitores de médula ósea, ya que con un solo procedimiento, y sin necesidad de anestesia ni las molestias secundarias a las múltiples punciones, puede obtenerse mayor cantidad de progenitores que con una aspiración de médula ósea. Adicionalmente, existe la posibilidad de efectuar más de un procedimiento para recolectar una mayor cantidad de progenitores. Entre sus desventajas, existentes únicamente en el TPH alogénico, destacan:

TABLA 39.3

Ventajas y desventajas de las fuentes alternativas de progenitores hematopoyéticos

Progenitores hematopoyéticos de sangre periférica	
Ventajas	• Método menos agresivo para el donante • Obtención de un mayor número de progenitores • Recuperación hematopoyética más rápida • Recuperación inmunológica más rápida
Desventajas	• Necesidad de administrar G-CSF al donante • Puede requerir colocación de un catéter venoso central • Trombocitopenia posdonación • Mayor incidencia de EICH crónica
Progenitores hematopoyéticos de sangre de cordón umbilical	
Ventajas	• Facilidad de obtención e inocuidad para el donante • Disponibilidad más rápida • Conocimiento previo de la celularidad • Mayor actividad clonogénica de los progenitores • Menor reactividad inmunológica (menos EICH)
Desventajas	• Cantidad limitada de progenitores hematopoyéticos • Imposibilidad de una segunda donación • Posible transmisión de enfermedades genéticas

TABLA 39.2

TPH efectuados en Europa y en España según el tipo de donante

Europa	**2000**	**2001**	**2002**	**2003***
Autogénico	12.910	13.163	13.292	12.767
Singénico	58	49	53	40
Hermano HLA-idéntico	3.994	3.884	4.143	3.781
Otro familiar	445	426	412	400
No emparentado	1.959	2.054	2.307	2.396
TOTAL	*19.366*	*19.576*	*20.207*	*19.384*
(*TIR*)	(1.434)	(1.765)	(1.927)	(2.243)
España	**2000**	**2001**	**2002**	**2003**
Autogénico	1.570	1.491	1.446	1.371
Singénico	7	3	5	3
Hermano HLA-idéntico	388	423	387	405
Otro familiar	37	13	29	26
No emparentado	91	99	116	130
TOTAL	*2.093*	*2.029*	*1.983*	*1.935*

*Datos preliminares en mayo 2004 (gentileza del Dr. A. Gratwohl –EBMT–). TIR: trasplante alogénico de intensidad reducida.

su elevado contenido en linfocitos T (unas 10 veces más que en la médula ósea), hecho que favorece el desarrollo de EICH; la necesidad de administrar G-CSF a un donante sano, si bien después de más de 10 años de empleo no se han descrito efectos secundarios a largo plazo; una trombocitopenia de grado variable que puede persistir varios días tras la donación; y, en aproximadamente el 5-10% de los donantes, la necesidad de colocar un acceso venoso central para poder realizar las aféresis. El impacto de los PHSP ha sido tal que, en pocos años, han sustituido a los de médula ósea en el 99% de los TPH autogénicos y, en España, en más de los dos tercios de los TPH alogénicos (tabla 39.4)[10,11]. En la tabla 39.5 se exponen los resultados de los principales estudios aleatorizados que comparan el TPH alogénico de médula ósea con el de sangre periférica[13].

La tercera fuente de progenitores hematopoyéticos es la *sangre del cordón umbilical* (SCU). Inmediatamente después del parto, tras cortar el cordón umbilical, es posible recolectar unos 100 mL de sangre del cordón y de la placenta, muy ricos en progenitores hematopoyéticos. Estos progenitores pueden ser criopreservados, después de su correcta tipificación HLA y tras haber descartado la existencia de enfermedades hereditarias o infecciosas, y emplearse para la práctica de un trasplante. Las principales ventajas de estos progenitores (v. tabla 39.3): su fácil obtención y rápida disponibilidad, así como la facilidad de reclutar donaciones aptas para trasplantes en minorías étnicas; su elevada capacidad de proliferación, que los hace aptos para restaurar la función hematopoyética de la mayoría de niños y algunos adultos; y su menor reactividad inmunológica, hecho que permite aceptar cierto grado de incompatibilidad HLA donante/receptor. Actualmente, se admiten hasta dos disparidades de un total de 6 *loci* analizados (cuatro de clase I –HLA-A y B–, estudiados mediante técnicas de baja resolución, y dos de clase II –DRB1– valorados con técnicas de alta resolución), ya que en igualdad de condiciones respecto a la identidad HLA, la EICH es mucho menos frecuente y menos intensa en los TPH de SCU[14].

TABLA 39.4

TPH efectuados en Europa y en España según el origen de los progenitores hematopoyéticos

Europa	2000		2001		2002		2003*	
Fuente	**alo**	**auto**	**alo**	**auto**	**alo**	**auto**	**alo**	**auto**
MO	3.022	575	2.673	436	2.662	359	2.194	319
SP	3.434	12.150	3.753	12.641	3.418	12.751	4.423	12.317
MO + SP	–	185	–	165	–	182	–	131
SCU	124	–	149	–	162	–	176	1
España	**2000**		**2001**		**2002**		**2003***	
Fuente	**alo**	**auto**	**alo**	**auto**	**alo**	**auto**	**alo**	**auto**
MO	158	29	149	29	158	23	121	18
SP	333	1.518	353	1.447	336	1.397	390	1.345
MO + SP	–	23	–	15	–	16	–	6
SCU	32	–	36	–	47	–	53	–

*Datos preliminares en mayo 2004 (gentileza del Dr. A. Gratwohl –EBMT–).
MO: médula ósea; SCU: sangre de cordón umbilical; SP: sangre periférica; alo: alogénico; auto: autogénico.

TABLA 39.5

Resultados de los principales estudios aleatorizados comparando progenitores de médula ósea y de sangre periférica en el TPH alogénico

Centro	Recuperación hematopoyética	EICH aguda II-IV	EICH crónica	Recaídas	MRT	SRV
Canadá 2002	> SP	=	> SP	=	=	> SP
UK 2000	> SP	=	=	> MO	=	=
Suecia 2000	> SP	> SP	> SP	> MO	=	=
Seattle 2001	> SP	=	> SP	> MO	> MO	=
Francia 2002	> SP	=	> SP	=	=	=
Brasil 2001	> SP	=	> SP	=	=	=
EBMT 2002	> SP	> SP	> SP	=	=	=

MO: médula ósea; MRT: mortalidad relacionada con el trasplante; SRV: supervivencia; SP: sangre periférica; >: mayor incidencia; =: iguales resultados.

Sus principales inconvenientes son: que la celularidad total de una unidad resulta insuficiente para tratar a pacientes con un volumen corporal elevado; la imposibilidad de disponer de una segunda donación en caso de producirse un fallo de implante; un mayor riesgo de fallo de implante y una reconstitución hematológica e inmunológica más lentas; la necesidad de efectuar controles a la madre y al neonato después del parto para descartar enfermedades genéticas e infecciosas; y el elevado coste de la recolección y criopreservación. La efectividad de la SCU ha hecho que se hayan abandonado otras fuentes de progenitores hematopoyéticos como el timo o el hígado fetal que, antaño, se habían utilizado de forma ocasional.

Una vez generalizado el empleo de PHSP y de SCU, dejó de tener sentido la denominación trasplante de médula ósea y se generalizó el término trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH). En la tabla 39.4 se expone la actividad de trasplante en España y en Europa en cada una de estas modalidades de TPH.

Intensidad del tratamiento de acondicionamiento

Además del tradicional *TPH alogénico mieloablativo* basado en la administración de un tratamiento de acondicionamiento intensivo, se ha desarrollado otra modalidad de trasplante, el *trasplante con acondicionamiento de intensidad reducida* (TIR). En función de la mielotoxicidad del tratamiento de acondicionamiento empleado en el TIR se suelen usar los términos *mini-TPH* (inmunodepresión con cierto grado de mieloablación) y *micro-TPH* (inmunodepresión sin mielotoxicidad). Los pacientes más beneficiados por los TIR son aquellos que, por su edad o su mal estado general, no tolerarían un acondicionamiento convencional. Esta modalidad de TPH es tanto más efectiva cuanto más sensible es la enfermedad de base al efecto injerto contra tumor. En el futuro, el TIR puede convertirse en el tratamiento de elección de diversas enfermedades no neoplásicas en las que con el TPH únicamente se pretende sustituir una población celular malfuncionante por otra normal, sin ser necesarias la acción antineoplásica del acondicionamiento ni el efecto antitumoral del injerto. En muchas de estas enfermedades (hemoglobinopatías, déficit enzimáticos, enfermedades de depósito, etc.) el logro de una quimera mixta estable puede ser más que suficiente para la resolución de todas las manifestaciones clínicas. En la tabla 39.2 se expone la actividad en Europa de esta modalidad de TPH que, en apenas 4-5 años, representa el 28% del total de los trasplantes alogénicos.

INDICACIONES

TPH alogénico

Dado que el TPH alogénico comporta la sustitución de todas las células del organismo derivadas de la célula madre pluripotencial hematopoyética, puede plantearse su empleo siempre que la enfermedad se origine en una de estas células y sea susceptible de curar si se sustituyen por otras sanas. Ello ocurre básicamente en los siguientes casos:

- *Neoplasias hematológicas*. Leucemia aguda mieloblástica y linfoblástica, leucemia mieloide crónica y otros síndromes mieloproliferativos, enfermedad de Hodgkin y linfomas no hodgkinianos, leucemia linfática crónica y otras enfermedades linfoproliferativas crónicas, mieloma múltiple y síndromes mielodisplásicos.
- *Hipoplasias medulares*. Aplasia medular grave y hemoglobinuria paroxística nocturna.
- *Inmunodeficiencias*. De diversos tipos.
- *Hemopatías congénitas*. Talasemia, síndrome de Wiskott-Aldrich y anemia de Fanconi, entre otras.
- *Otras enfermedades congénitas que afectan a la médula ósea*. Enfermedad de Gaucher, osteopetrosis, mucopolisacaridosis, mucolipidosis y diversos trastornos lisosómicos.

TPH autogénico

Es el tratamiento de elección cuando la toxicidad medular es el principal factor limitante para un tratamiento intensivo. Dado que todo TPH autogénico comporta el riesgo de administrar células neoplásicas residuales en el inóculo de médula ósea o sangre periférica, las principales indicaciones del TPH son aquellas enfermedades que cursan sin afección medular (enfermedad de Hodgkin, linfomas no hodgkinianos y tumores sólidos). A pesar de ello, el TPH autogénico se emplea como forma de intensificar el tratamiento en pacientes con leucemia aguda mieloblástica o linfoblástica, mieloma múltiple, leucemia linfática crónica u otras enfermedades linfoproliferativas crónicas que carecen de donante compatible o en los que el TPH alogénico supone una toxicidad no aceptable.

En la actualidad, el TPH autogénico también se utiliza para el tratamiento de la amiloidosis primaria y de enfermedades autoinmunes resistentes a los tratamientos convencionales (esclerosis múltiple, esclerosis sistémica, lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoide, entre otras). En ellas, el TPH autogénico pretende «reinicializar» el sistema inmunitario malfuncionante con la esperanza de que la nueva población linfoide generada con el trasplante no sea autorreactiva. En la amiloidosis, se pretende frenar el depósito de sustancia amiloide y, con ello, favorecer la eliminación de la sustancia depositada en los diversos órganos y mejorar la sintomatología.

Para establecer la indicación de TPH alogénico o autogénico, además de la enfermedad de base y el grado de identidad HLA donante-receptor, deben valorarse otros aspectos fundamentales, como el *estado clínico del paciente* y la *fase evolutiva* en que se halla la enfermedad. Es preciso valorar con cuidado el estado general del enfermo y la presencia o ausencia de alteraciones funcionales de órganos vitales, ya que de ello dependerá el resultado del TPH. Los pacientes no tributarios de un TPH alogénico convencional pueden ser considerados para la práctica de un TIR. Dado el impacto del estado de la enfermedad en el momento de realizar el TPH, el European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) ha elaborado una serie de recomendaciones muy útiles que precisan qué tipo de TPH está indicado, en adultos y en niños, en cada enfermedad y en cada situación clínica (tablas 39.6a y 39.6b)[15].

TÉCNICA DEL TRASPLANTE

Preparación del receptor

El *tratamiento de acondicionamiento* se efectúa en los días previos a la transfusión de los progenitores hematopoyéticos. Según se trate de un trasplante alogénico convencional o un

TABLA 39.6a

Indicación de TPH en el adulto según el EBMT (2001)

Enfermedad	Estado de la enfermedad	Alogénico		Autogénico
		Hermano	Don. Alt.	
Leucemia aguda mieloblástica	RC1, RC2	E	PCA	E
	RC3, REC incipiente	E	PCA	PCA
	M3, persistencia molecular[a]	E	PCA	NR
	M3 2.ª remisión molecular	E	PCA	E
	REC o refractaria	PCA	NR	NR
Leucemia aguda linfoblástica	RC1 (alto riesgo), RC2, REC incipiente	E	E	PCA
	REC o refractaria	PCA	NR	NR
Leucemia mieloide crónica	Fase crónica	E	E	PCA
	Fase acelerada	E	E	NR
	Crisis blástica	EP	NR	NR
Síndromes mieloproliferativos (no LMC)		PCA	EP	EP
Síndromes mielodisplásicos	AR, AREB	E	E	PCA
	AREB-t, LMA secundaria en RC1 o RC2	E	PCA	PCA
	Fases más avanzadas	E	PCA	NR
Leucemia linfática crónica		E	EP	PCA
LNH Grado alto e intermedio	RC1	NR	NR	E
	REC, RC2, RC3	PCA	PCA	E
	Refractario	PCA	NR	NR
	RC1	NR	NR	PCA
Bajo grado	REC, RC2, RC3	PCA	EP	E
Enfermedad de Hodgkin	RC1	NR	NR	PCA
	1.ª REC, RC2, RC3	PCA	NR	E
	Refractario	PCA	NR	PCA
Mieloma múltiple		PCA	EP	E
Aplasia medular grave	Paciente < 45 años	E	EP	NR
Hemoglobinuria paroxística nocturna		PCA	EP	
TS C. mama	Adyuvante o inflamatorio	NR	NR	PCA
C. mama	Metastático en respuesta	EP	NR	PCA
Germinal	REC sensible	NR	NR	E
Germinal	Refractario	NR	NR	PCA
Ovario	EMR	EP	NR	NR
Ovario	Refractario	EP	NR	NR
Glioma	Poscirugía	NR	NR	EP
Pulmón[b]	Primera línea	NR	NR	PCA
C. renal	Metastático	EP	NR	NR
EAI PTI[c]		–	–	EP
ES		–	–	EP
AReu		–	–	EP
EM		–	–	EP
LES		–	–	EP
AL		EP	NR	EP

AL: amiloidosis; AR: anemia refractaria; AReu: artritis reumatoide; Don. Alt.: donantes alternativos; E: uso estandarizado en pacientes seleccionados; EAI: enfermedades autoinmunes; EM: esclerosis múltiple; EMR: enfermedad mínima residual; EP: estudios piloto aprobados en unidades especializadas; ES: esclerosis sistémica; LES: lupus eritematoso sistémico; LNH: linfoma no hodgkiniano; NR: no recomendado; PCA: protocolos clínicos aprobados; PTI: púrpura trombocitopénica idiopática; REC: recaída; RC: remisión completa; TS: tumores sólidos.

[a] Tras consolidación o tratamiento de rescate.

[b] De células pequeñas limitado o de buen pronóstico.

[c] Con sangrado.

Adaptado de Urbano-Ispizua et al, BMT 2002.

TIR, predominarán los agentes citotóxicos o los inmunodepresores, respectivamente. Entre los citotóxicos destacan: ciclofosfamida, busulfano, melfalán, etopósido y arabinósido de citosina, fármacos que en muchas ocasiones se complementan con irradiación corporal total administrada a partir de una fuente de cobalto o de un acelerador lineal (tabla 39.7). La dosis de radioterapia oscila entre 10 y 15 Gy, administrados en una o varias sesiones, con protección de los pulmones cuando se alcanzan los 8-9 Gy. Entre los inmunodepresores destacan la globulina antitimocítica (ATG), la

TABLA 39.6b

Indicación de TPH en el niño según el EBMT (2001)

Enfermedad	Estado de la enfermedad	Alogénico		Autogénico
		Hermano	Don. Alt.	
Leucemia aguda mieloblástica	RC1 (bajo riesgo)	NR	NR	NR
	RC1 (alto riesgo)	E	NR	E
	RC2	E	E	E
Leucemia aguda linfoblástica	RC1 (bajo riesgo)	NR	NR	NR
	RC1 (alto riesgo)	PCA	PCA	NR
	RC2[a]	E	E	PCA
	> RC2	E	E	PCA
Leucemia mieloide crónica	Fase crónica	E	E	PCA
	Fase acelerada	E	E	NR
Linfoma no hodgkiniano	RC1 (bajo riesgo)	NR	NR	NR
	RC1 (alto riesgo)	PCA	PCA	PCA
	RC2[b]	E	E	PCA
Enfermedad de Hodgkin	RC1	NR	NR	NR
	1.ª REC, RC2	PCA	EP	E
Síndromes mielodisplásicos		E	E	NR
Inmunodeficiencias		E	E	–
Talasemia[c]		E	EP	–
Drepanocitosis[d]		E	EP	–
Aplasia medular grave		E	PCA	–
Blackfan-Diamond		E	PCA	–
Errores congénitos metabolismo		PCA	PCA	
Tumores sólidos	Germinales	NR	NR	PCA
	Sarcoma Ewing	NR	NR	PCA
	Sarcoma tejidos blandos	EP	EP	PCA
	Neuroblastoma	NR	NR	PCA
	Tumor de Wilms	NR	NR	PCA
	Sarcoma osteogénico	NR	NR	EP
	Tumores cerebrales	NR	NR	PCA
Enfermedades autoinmunes		NR	NR	EP

Don. Alt.: donantes alternativos; E: uso estandarizado en pacientes seleccionados; EP: estudios piloto aprobados en unidades especializadas; NR: no recomendado; PCA: protocolos clínicos aprobados; RC: remisión completa; REC: recaída.

[a] En recidivas antes de los 12 meses o en pacientes con LLA-T no posibilidad de curación sin alo-TPH de hermano o DnE; en REC > 4 años puede estar recomendado un alo-TPH a partir de un hermano HLA-idéntico.

[b] Deben ser tratados como una LLA.

[c] En pacientes homocigotos con un hermano compatible no afecto el alo es el tratamiento de elección.

[d] En pacientes con hermano compatible que hayan presentado complicaciones mayores.

Adaptado de Urbano-Ispizua et al, BMT 2002.

irradiación toracoabdominal o ganglionar total, la irradiación corporal total en dosis bajas (2 Gy) y la fludarabina, un potente fármaco linfolítico empleado en la mayoría de los TIR. Algunos fármacos, como la ciclofosfamida, el busulfano o el melfalán, tienen actividad citolítica e inmunodepresora, por lo que se emplean en ambos tipos de TPH[16].

Obtención de los progenitores hematopoyéticos

De médula ósea

Al donante –o al paciente, en el caso de un TPH autogénico– en un quirófano y bajo condiciones estériles, se le practican entre 100 y 200 punciones aspirativas de unos 3-5 mL cada una, en ambas crestas ilíacas posteriores y, si es necesario, en las anteriores. En el adulto normal se obtienen de esta forma 800-1.200 mL (máximo, 15 mL/kg de peso) de sangre medular, con un contenido de 10-20 × 10^9 células nucleadas totales (entre 1,5 y 3,5 × 10^8/kg células nucleadas y 2-3 × 10^6/kg células CD34+). A medida que se extrae la médula, se deposita en un recipiente con un medio de cultivo con heparina. Una vez finalizada la extracción, todo el producto se pasa a través de filtros de 500 y 200 µm de luz. De esta forma, los grumos medulares se convierten en suspensiones celulares, y se eliminan las esquirlas óseas. En función del volumen de sangre medular obtenido, durante el procedimiento suele administrarse una autotransfusión a los donantes y una transfusión convencional a los pacientes. La donación de médula ósea no entraña riesgos para el donante. Las complicaciones mayores (embolia pulmonar, accidentes

TABLA 39.7

Esquemas de acondicionamiento más empleados

Régimen	Dosis total
ESQUEMAS CON RADIOTERAPIA	
Cy/ICT	120 mg/kg/12-14 Gy
Cy/VP/ICT	120 mg/kg/30-60 mg/kg/12-14 cGy
VP/ICT	60 mg/kg/12-14 Gy
ARA-C/ICT	36 g/m^2/12-14 Gy
MEL/ICT	110-140 mg/m^2/10-14 Gy
Cy/ITA	200 mg/kg/6 Gy
ESQUEMAS SIN RADIOTERAPIA	
Bu/Cy	16 mg/kg/120 o 200 mg/kg
Bu/MEL	16 mg/kg/140 mg/m^2
Bu	16 mg/kg
MEL	140-200 mg/m^2
Cy/ATG	200 mg/kg/90 mg/kg
BEAM (BCNU/VP/ARA-C/MEL)	300 mg/m^2/400-800 mg/m^2/800-1.600 mg/m^2/140 mg/m^2
BEAC (BCNU/VP/ARA-C/Cy)	300 mg/m^2/600-800 mg/m^2/800 mg/m^2/4,5-7,5 g/m^2
BAVC (BCNU/Amsa/VP/ARA-C)	800 mg/m^2/450 mg/m^2/450 mg/m^2/900 mg/m^2
CBV (BCNU/VP/Cy)	300-600 mg/m^2/750-2.400 mg/m^2/4,8-7,2 g/m^2
CCB (STAMP I) (Cy/Cisp/BCNU)	5.625 mg/m^2/165 mg/m^2/600 mg/m^2
CTCb (STAMP V) (Cy/TT/Carbop)	500 mg/m^2/6 g/m^2/800 mg/m^2
ICE (Ifosf/Carbop/VP)	16 g/m^2/1,8 g/m^2/1,5 g/m^2
Bu/TT/Cy	16 mg/kg/10 mg/kg/120 mg/kg
CCVP (Cisp/VP Cy)	250 mg/m^2/60 mg/kg/100 mg/kg
CBT (Cy/BCNU/TT)	6,0 mg/m^2/450 mg/m^2/720 mg/m^2
ESQUEMAS DE INTENSIDAD REDUCIDA	
Fluda/Bu	150 mg/m^2/10 mg/kg
Fluda/MEL	150 mg/m^2/140 mg/m^2
Fluda/Cy	150 mg/m^2/120 mg/kg
Fluda/ATG/Bu	180 mg/m^2/5-10 mg/kg/4 mg/kg
Fluda/ICT	90 mg/m^2/2,0 Gy
ACONDICIONAMIENTOS EMPLEADOS EN LAS PRINCIPALES PATOLOGÍAS	
Enfermedad	**Esquema**
LMA, LLA, LMC	Cy/ICT, Bu/Cy, VP/ICT, Cy/VP/ICT, Fluda/ICT*, Fluda/Bu*
SMD	Cy/ICT, Bu/Cy, Bu/Cy/VP, Fluda/Bu*
LLC	Cy/ICT, Fluda/MLF*
LNH, EH	BEAM, BEAC, Cy/ICT, Bu/Cy, CBV, Fluda/MLF*
Mielofibrosis	Cy/ICT, Bu/Cy
Mieloma múltiple	MLF, Bu/MLF, MFL/ICT, Cy/ICT, Bu/Cy, Fluda/Bu*, Fluda/ICT*
Aplasia medular	Cy/ATG, Cy/ITA, Cy/ICT
Tumores sólidos	CCB, CTCb, ICE
Talasemia	Bu/Cy
Fanconi	Cy/ITA
Neuroblastoma	MFL, MFL/ICT
E. autoinmunes	BEAM, Cy, Cy/ICT, BCNU/Cy (± ATG)

Amsa: amsacrina; ARA-C: arabinósido de citosina; ATG: globulina antitimocítica; BCNU: carmustina; Bu: busulfano; Carbop: carboplatino; Cisp: cisplatino; Cy: ciclofosfamida; Fluda: fludarabina; ICT: irradiación corporal total; Ifosf: ifosfamida; ITA: irradiación toracoabdominal; MEL: melfalán; TT: thiotepa; VP: etopósido.

*Esquemas empleados en los TIR.

anestésicos) se han descrito en menos del 0,3% de las extracciones medulares, y las menores (hipotensión, dolor, cefalea) en el 6-10%. La gran capacidad de regeneración de la médula ósea permite incluso donaciones repetidas sin ningún peligro para la hematopoyesis normal.

De sangre periférica

Para conseguir una adecuada movilización de los progenitores hematopoyéticos de la médula ósea a la sangre periférica hay que administrar G-CSF al donante. Si se trata de un paciente al que se va a efectuar un TPH autogénico, la movi-

lización se puede realizar con G-CSF solo o en combinación con quimioterapia. Los efectos secundarios del G-CSF se limitan a molestias musculosqueléticas y cefalea. La obtención de PHSP se realiza mediante punción de la vena cubital del antebrazo. La sangre obtenida circula por un separador celular que, por centrifugación, separa sus diferentes componentes celulares. De esta forma, se depositan en una bolsa las células mononucleadas, que incluyen las células CD34+, y se devuelve al donante el plasma, los eritrocitos y los leucocitos polimorfonucleares por la vena cubital del otro brazo. En total, en un procedimiento de aféresis circulan entre 10 y 20 L de sangre. La cantidad de células CD34+ que se obtiene con una citoaféresis es mayor que la obtenida en una aspiración de médula ósea, y su contenido en linfocitos T es diez veces superior[17].

De sangre de cordón umbilical

La SCU del neonato es una excelente fuente de progenitores hematopoyéticos, ya que contiene una proporción de progenitores similar a la de la médula ósea del adulto, con un número de progenitores primitivos o muy inmaduros muy superior y con una mayor capacidad formadora de colonias en cultivos celulares que la médula ósea, propiedades que se mantienen tras su criopreservación. Por ello, siempre que sea posible es recomendable su recolección y criopreservación para pasar a engrosar el depósito mundial de unidades de cordón que supera ya las 160.000 unidades. Pueden donar la SCU todas las mujeres mayores de 18 años de edad, con historia obstétrica normal, con controles serológicos negativos, sin antecedentes médicos (maternos y paternos), con un embarazo que se ha desarrollado dentro de la normalidad, que vayan a dar a luz en una maternidad autorizada para la recogida de SCU, y que firmen el correspondiente consentimiento autorizado. La recogida puede efectuarse antes del alumbramiento de la placenta (colección *in utero*) o después (colección *ex utero*). La técnica de recolección *in utero* es la más empleada. Después del parto se pinza precozmente el cordón (antes de 30 segundos) lo más cerca posible del recién nacido (a unos 5 cm de distancia). Tras seccionar el cordón se punciona la vena umbilical con una aguja incorporada a una bolsa de recolección en la que se depositan por gravedad 80-120 mL de SCU[18].

Tratamiento *ex vivo* del inóculo

En ocasiones, conviene actuar sobre la celularidad obtenida, antes de administrarla al paciente. En el TPH alogénico el tratamiento más frecuente consiste en la eliminación de los linfocitos T, con la finalidad de prevenir la EICH. Lamentablemente, este procedimiento va acompañado de un aumento en la incidencia de fallos de implante y de recidivas leucémicas. Por ello, la eliminación de los linfocitos T no mejora de forma global la supervivencia libre de enfermedad. En el TPH autogénico, el tratamiento *ex vivo* tiene como objetivo eliminar la celularidad neoplásica residual que pueda haberse aspirado. Este tratamiento consiste en incubar el inóculo con AcMo y complemento, citostáticos e inmunotoxinas, o en el empleo de métodos físicos (elutriación, técnicas de aglutinación o fotolumínicas). La mayoría de las unidades de TPH han utilizado estrategias inmunológicas para eliminar las células malignas o los linfocitos T del inóculo (selección negativa). Estas técnicas son laboriosas, requieren una gran experiencia técnica y son difíciles de estandarizar entre los diferentes centros de trasplante. En el momento actual se dispone de técnicas sencillas, automáticas y rápidas que seleccionan directamente los progenitores hematopoyéticos del inóculo (selección positiva) y permiten eliminar, de forma indirecta, las células no deseadas. En la técnica de selección positiva de células CD34+ se incuban las células hematopoyéticas con un AcMo anti-CD34+ que tiene unida una molécula de biotina o una partícula férrica, y se separan las células diana mediante microesferas con avidina o micropartículas magnetizadas, respectivamente. También pueden emplearse separadores celulares de alta velocidad mediante citometría de flujo para aislar subpoblaciones de células CD34+ muy purificadas[19,20].

Administración de los progenitores

Clásicamente, en el TPH alogénico, los progenitores se solían transfundir al paciente por vía intravenosa poco después de su obtención. Hoy día esta conducta se mantiene con los de médula ósea, pero no es infrecuente que los PHSP se obtengan con anterioridad al trasplante y se mantengan criopreservados hasta su utilización. Lógicamente, en el TPH autogénico los progenitores de médula ósea o de sangre periférica deberán criopreservarse hasta el momento de la transfusión. Si no se prevé una pronta utilización de los progenitores es aconsejable su congelación en nitrógeno líquido (–196 °C); en caso contrario, pueden conservarse a temperaturas de –80 °C. El día del TPH (denominado día 0) los progenitores se descongelan de forma rápida mediante inmersión en baño María a 37-40 °C y se administran inmediatamente[21].

La cantidad de células CD34+ que se infunde en un TPH de médula ósea es de alrededor de 2-3 $\times 10^6$/kg, y los resultados clínicos del trasplante son mejores cuanto mayor sea la cantidad infundida. En cambio, la cantidad de células CD34+ que se infunde en el TPH alogénico de PHSP oscila entre 3 y 6 $\times 10^6$/kg y los resultados clínicos del trasplante no son mejores si se infunde una cantidad superior. En el TPH de SCU el objetivo en niños debe ser administrar más de 3,5 $\times 10^7$ células nucleadas por kilo de peso del receptor, o de 1,7 $\times 10^5$ células CD34+/kg. El número mínimo no ha sido establecido, pero el riesgo de fracaso de implante es alto si se infunden menos de 1 $\times 10^7$ células nucleadas/kg. En el TPH autogénico, la cantidad de células CD34+ recogida puede ser muy escasa, sobre todo si el paciente ha recibido una gran cantidad de fármacos mielotóxicos. Aunque no se conoce con precisión cuál es la cantidad mínima de células CD34+ necesaria para conseguir el implante en el TPH autogénico, se considera que hay que infundir por lo menos 1 $\times 10^6$ células CD34+/kg. La infusión de más de 2 $\times 10^6$ células CD34+/kg prácticamente asegura que el implante será adecuado, y éste será muy rápido si la cifra es superior a 4 $\times 10^6$ CD34+/kg[22].

Una vez administrados los progenitores hematopoyéticos, y después de su tránsito por diversos órganos (pulmones, bazo, entre otros), anidan en las cavidades medulares e inician la reconstitución de la celularidad hematopoyética. La existencia de diferencias en los grupos eritrocitarios entre donante y receptor no influye en el éxito del TPH. Éste puede realizarse incluso en presencia de una incompatibilidad ABO mayor, pero en tal caso es necesario reducir el título de isoanticuerpos del receptor o eliminar los hematíes del inóculo mediante técnicas de centrifugación o separación. En los PHSP la contaminación por hematíes es tan baja que no se precisan manipulaciones adicionales.

DEMOSTRACIÓN DEL INJERTO

A los pocos días de finalizado el tratamiento de acondicionamiento y de haber administrado los progenitores hematopoyéticos se produce una rápida caída de los valores hemoperiféricos, que es tanto más acusada cuanto más intenso haya sido dicho tratamiento. Alrededor de la segunda semana, en los TPH de sangre periférica, de la tercera en los TPH de médula ósea, y de la cuarta en los TPH de SCU, se observa la progresiva recuperación de dichos valores hasta normalizarse al cabo de 1 o 2 meses (en la tabla 39.8 se muestran las medianas de los valores promedios de dicha recuperación). La reconstitución hematopoyética puede ser más lenta en el TPH autogénico que en el alogénico, debido al efecto mielotóxico de la quimioterapia recibida por el paciente antes del trasplante.

Se define como *quimerismo* la coexistencia en un mismo organismo de poblaciones celulares originadas en individuos genéticamente distintos. En el TPH alogénico se induce en el receptor un estado de inmunodepresión que permite la supervivencia de las células del donante. Según la presencia o ausencia de células hematopoyéticas del paciente tras el TPH se distinguen dos situaciones: *a*) quimerismo completo, situación en la que todas las células hematopoyéticas proceden del donante, y *b*) quimerismo mixto, coexistencia de células hematopoyéticas del donante y del receptor. Para demostrar que la reconstitución hematológica del TPH alogénico es consecuencia del implante medular y no de la recuperación de la propia hematopoyesis del paciente, pueden estudiarse determinados marcadores específicos de injerto que permiten valorar el grado de quimerismo. Las técnicas más empleadas son el estudio del fenotipo eritrocitario o linfocitario (poco sensibles), los estudios citogenéticos o de FISH (sólo útiles cuando existe diferencia de sexo entre donante y receptor), y el estudio de los polimorfismos del DNA (generalmente, estudio de microsatélites por PCR). Por su relativa sencillez y sensibilidad, esta última permite analizar el quimerismo en distintas poblaciones celulares y, con ello, discernir entre un implante estable (con quimerismo completo o mixto), un rechazo del injerto, una pérdida de injerto o una recidiva de la enfermedad de base[23].

COMPLICACIONES

Las complicaciones del TPH son el resultado final de las repetidas agresiones sufridas por los órganos y tejidos del paciente a lo largo del procedimiento, por la toxicidad directa del tratamiento de acondicionamiento, la liberación masiva de citocinas, las infecciones de repetición, los fenómenos inmunitarios que se producen durante el TPH alogénico y la toxicidad de los fármacos inmunodepresores empleados para la prevención y tratamiento de la EICH (tabla 39.9).

TABLA 39.9

Complicaciones del trasplante de progenitores hematopoyéticos

Toxicidad temprana del tratamiento de acondicionamiento
- Trastornos gastrointestinales (náuseas, vómitos y diarreas)
- Aplasia medular
- Alopecia
- Cistitis hemorrágica

Complicaciones precoces de origen multifactorial
- Síndrome de obstrucción sinusoidal: enfermedad venooclusiva
- Síndrome de hiperpermeabilidad capilar
- Síndrome del implante
- Hemorragia alveolar difusa
- Microangiopatía trombótica
- Síndrome de neumonía idiopática

Infecciones y hemorragias

Complicaciones de origen inmunológico
- Rechazo del injerto. Fallo primario del implante
- Enfermedad del injerto contra el huésped
- Trastornos autoinmunes

Complicaciones tardías del TPH
- Alteraciones hormonales
- Esterilidad
- Cataratas
- Alteraciones pulmonares, dentales, óseas, hepáticas
- Hemosiderosis
- Segundas neoplasias

Toxicidad precoz del tratamiento de acondicionamiento

Efectos secundarios inmediatos

Los tejidos más afectados por el tratamiento de acondicionamiento son aquellos con menor tiempo de duplicación celu-

TABLA 39.8

Tiempo necesario para el implante [mediana (extremos)] según el origen de los progenitores hematopoyéticos y tipo de TPH

	Autogénico		Alogénico[a]	
Progenitores	Neutrófilos	Plaquetas	Neutrófilos	Plaquetas
MO	14 (9-25)	23 (13-56)	17 (9-20)	24 (24-169)
SP	11 (9-38)	16 (8-52)	11 (9-19)	13 (10-70)
SCU	–	–	33 (12-56)	85 (16-159)

[a]Empleando ciclosporina y metotrexato como profilaxis de la EICH; MO: médula ósea; SCU: sangre de cordón umbilical; SP: sangre periférica; neutrófilos > 500/μL, plaquetas > 20.000/μL.

lar (médula ósea, mucosa intestinal, folículos pilosos). Por ello, los pacientes presentan náuseas, vómitos y diarrea de intensidad variable. También son frecuentes la mucositis oral y esofágica, a menudo sobreinfectadas por virus del grupo herpes y hongos. Algunos enfermos sufren parotiditis y pancreatitis. Durante los 12-21 días necesarios para la reconstitución hematopoyética, existe una pancitopenia extrema, con el consiguiente riesgo de hemorragias e infecciones. Las hemorragias, temibles hace unos años, son ahora infrecuentes gracias al soporte plaquetario. Por contra, las infecciones bacterianas y fúngicas todavía son frecuentes. La alopecia, aunque reversible, puede originar problemas psicológicos.

Cistitis hemorrágica

Uno de los metabolitos de la ciclofosfamida, la acroleína, es altamente tóxico para la mucosa vesical y puede ocasionar desde moderadas erosiones hasta extensas lesiones, con hemorragias incoercibles. La misma complicación puede observarse, aunque con menor frecuencia, al emplear ifosfamida, busulfano o etopósido. Suele aparecer al cabo de pocas horas o días del tratamiento de acondicionamiento. Cuando su aparición es más tardía, suele ser debida a infecciones víricas (en especial, por poliomavirus humano tipo BK o JC). La profilaxis de la cistitis por ciclofosfamida se basa en aumentar la diuresis y alcalinizar la orina mediante una adecuada hidratación y la administración de 2-mercaptoetanol sulfonato sódico (mesna), fármaco inhibidor de la acroleína. Su tratamiento se basa en la hidratación forzada, los lavados vesicales y el soporte plaquetario. En casos graves, puede ser necesario recurrir a la cistotomía, embolización o ligadura de las arterias hipogástricas, o incluso cistectomía.

Complicaciones precoces de origen vascular

En el postrasplante inmediato (primeros 30-60 días) puede observarse una serie de complicaciones de origen multifactorial, y límites clínicos poco precisos y en ocasiones solapados, que se originan como consecuencia de la alteración morfológica y funcional del endotelio vascular. En función de su localización, esta alteración endotelial conduce a la disfunción de uno o varios órganos. Los cuadros clínicos mejor definidos son: *a*) síndrome de hiperpermeabilidad capilar (con pérdida de fluidos al tercer espacio, que origina un cuadro caracterizado por aumento brusco de peso y edemas generalizados que no responden al tratamiento diurético, insuficiencia renal prerrenal, hipotensión e hipoalbuminemia); *b*) síndrome del implante (fiebre de causa no infecciosa, erupción cutánea e infiltrados pulmonares, coincidentes con la recuperación leucocitaria); *c*) hemorragia alveolar difusa (disnea, tos, hipoxemia, condensaciones pulmonares focales o difusas y lavado broncoalveolar progresivamente hemático); *d*) microangiopatía trombótica (anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia, insuficiencia renal, alteraciones neurológicas); *e*) síndrome de neumonía idiopática (fiebre, tos no productiva, hipoxemia, infiltrados intersticiales o alveolares en la radiografía de tórax y negatividad de todos los estudios orientados a la búsqueda de un agente etiológico infeccioso), y *f*) síndrome de obstrucción de los sinusoides hepáticos (también denominada enfermedad venooclusiva del hígado), cuyas principales características se detallan a continuación, por ser una complicación frecuente del TPH[24].

Síndrome de obstrucción de los sinusoides hepáticos

Esta complicación, consecuencia de la alteración del endotelio sinusoidal del hígado, se caracteriza por la oclusión progresiva, no trombótica, de las pequeñas terminaciones centrales y sublobulillares de las venas hepáticas por una hiperplasia fibrosa subendotelial. Clínicamente, se manifiesta por la aparición, en el postrasplante inmediato, de hepatomegalia dolorosa, ictericia y aumento de peso por retención hídrica (la tabla 39.10 muestra los criterios clínicos empleados internacionalmente para el diagnóstico de este síndrome). Dado que otros cambios histológicos del hígado causados por el tratamiento de acondicionamiento (fleboesclerosis, fibrosis sinusoidal, necrosis hepatocitaria, entre otros) pueden producir las mismas manifestaciones clínicas, hoy día se tiende a sustituir la denominación «enfermedad venooclusiva hepática» por «síndrome de obstrucción sinusoidal». La incidencia de esta complicación es muy variable (del 3 al 50%) en función de la presencia o ausencia de diversos factores de riesgo entre los que destacan: la intensidad del tratamiento de acondicionamiento (mayor riesgo si se emplea busulfano o dosis altas de radioterapia), una hepatopatía previa (en especial, la existencia de hepatitis en el pretrasplante inmediato), el tipo de TPH (mayor incidencia en el alogénico que en el autogénico) y el grado de compatibilidad donante-receptor (mayor riesgo en los TPH realizados a partir de un donante no emparentado o con diferencias en el sistema HLA). La única medida profiláctica efectiva es el empleo, en los pacientes de alto riesgo, de heparina sódica en perfusión continua o de heparina de bajo peso molecular. En los casos leves (75%), pueden ser suficientes las medidas sintomáticas y de soporte (analgésicos, restricción hidrosalina, diuréticos, mantenimiento del volumen intravascular con coloides, expansores o transfusiones). En los casos graves (25%), en los que el paciente tiende a evolucionar hacia un fallo multiorgánico, debe recurrirse a medidas como paracentesis o toracocentesis, diálisis, derivaciones peritoneo-venosas o porto-sistémicas intrahepáticas, o la administración de fármacos como el rt-PA (activador tisular del plasminógeno) o el defibrótido. A diferencia del rt-PA, que sólo puede usarse en pacientes sin hipertensión, diátesis hemorrágica o fallo multiorgánico, el defibrótido se ha mostrado exento de efectos secundarios y muy efectivo, puesto que con su empleo se resuelven hasta el 40% de los episodios graves asociados con fallo multiorgánico. Con todo, el 10-30% de los pacientes

TABLA 39.10

Criterios diagnósticos del síndrome de obstrucción de los sinusoides hepáticos

Criterios de Seattle	Criterios de Baltimore
Antes del día +20 del TPH, al menos, dos de los siguientes datos clínicos: – Bilirrubina > 2 mg/dL (> 34,2 mmol/L) – Hepatomegalia y dolor en hipocondrio derecho – Ascitis y/o aumento injustificado del peso habitual superior al 2%	Antes del día 21 del TPH Bilirrubina > 2 mg/dL (> 34,2 mmol/L) y, al menos, dos de los siguientes: – Hepatomegalia y dolor en el hipocondrio derecho – Aumento injustificado del peso habitual superior al 5% – Ascitis

con esta complicación fallece por su causa o por complicaciones asociadas[24].

Complicaciones infecciosas

Las infecciones son una de las complicaciones más destacables del TPH, a pesar de que la morbilidad y la mortalidad asociadas a las mismas ha disminuido considerablemente en los últimos años gracias al mejor conocimiento de los factores de riesgo, de la recuperación inmunitaria post-TPH, y del patrón de infección según la fase evolutiva del TPH, así como al desarrollo de antimicrobianos más efectivos. El tiempo necesario para alcanzar una reconstitución inmunológica completa después del TPH es muy variable y depende del tipo de trasplante (autogénico o alogénico), de la fuente de progenitores (sangre periférica, médula ósea o sangre de cordón), del régimen de acondicionamiento, de la manipulación del inóculo mediante técnicas de eliminación de linfocitos T, del grado de histocompatibilidad entre donante y receptor, y de la presencia de EICH y de su tratamiento. Después del TPH existe una inmunodeficiencia, más o menos intensa, que afecta tanto a la inmunidad celular como a la humoral. Esta inmunodepresión puede verse agravada por la potente acción de los análogos de las purinas, fármacos frecuentemente empleados en pacientes afectados de neoplasias linfoides en la fase previa al TPH. Además de la inmunodepresión, existen otros factores que aumentan el riesgo de infección, destacando: la prolongada y profunda neutropenia, la alteración de las barreras anatómicas (mucositis, catéteres venosos centrales), y la existencia de infecciones en estado latente, en especial virus del grupo herpes y *Toxoplasma gondii*. En función de todos estos factores de riesgo se distinguen tres fases evolutivas, a partir del día de la infusión de los progenitores (día 0), en las que predominan determinados tipos de infección (tabla 39.11)[25]:

Período de neutropenia (días 0 a +30)

En esta fase, el riesgo de infección aumenta con la intensidad, rapidez de instauración y duración de la neutropenia. Los patógenos más frecuentes son bacterias, *Candida* spp. y virus del herpes simple (VHS). Las bacterias gramnegativas y/o grampositivas pueden causar, entre otras, sepsis, neumonía, orofaringitis, infecciones perianales y perirrectales, sinusitis e infecciones cutáneas. A lo largo de la última década se ha asistido a un aumento de las infecciones por cocos grampositivos, debido en parte al uso generalizado de accesos venosos centrales, si bien dicha tendencia parece haberse estabilizado. Las medidas preventivas de las infecciones durante este período se encaminan a la eliminación de los gérmenes endógenos y a evitar la adquisición de gérmenes exógenos. Las más importantes son el lavado de manos, la higiene oral, las dietas de bajo contenido bacteriano y la descontaminación intestinal selectiva (con preservación de la flora anaerobia), mediante la administración de antibióticos por vía oral, habitualmente una quinolona, a la que suele asociarse un antifúngico (habitualmente, fluconazol). En pacientes seropositivos para el VHS, el empleo profiláctico de aciclovir ha reducido notablemente las infecciones por este agente.

El tratamiento inicial de un paciente con fiebre y neutropenia, o con sospecha de infección, debe establecerse de forma precoz y empírica, y administrar antibióticos de amplio espectro. Durante años, estos pacientes fueron tratados con la asociación de un betalactámico antiseudomónico y un aminoglucósido; en la actualidad, suele preferirse la monoterapia (cefalosporina de cuarta generación, piperacilina-tazobactam, o un carbapenémico). Cuando existe sospecha razonable de que la infección puede ser producida por un coco grampositivo se asocia un glucopéptido a los agentes antes mencionados. El tratamiento empírico se modifica a los 2-3 días de instaurado, en función del resultado de los cultivos y de la respuesta clínica. Si, a pesar del tratamiento, la fiebre persiste a los 5 días de tratamiento y no existe documentación bacteriológica, procede añadir, de forma empírica, un antifúngico. Las complicaciones infecciosas observadas en este período son prácticamente idénticas en los trasplantes autogénico y alogénico. Sin embargo, en el autogénico las infecciones dejan de producirse casi por completo una vez superada la neutropenia.

Período intermedio (días +30 a +100)

Período que sigue al implante medular y que se caracteriza por el desarrollo de infecciones víricas y fúngicas, favorecidas por la habitual inmunodeficiencia postrasplante y, en el TPH alogénico, por la inmunodeficiencia adicional que conllevan la EICH aguda y su tratamiento. Destacan por su frecuencia la infección citomegálica, la cistitis hemorrágica por

TABLA 39.11

Cronología de las infecciones en el trasplante hematopoyético

Período	De neutropenia	Intermedio	Tardío
Días	0 a +30	+30 a +100	> +100
Factores de riesgo	– Neutropenia – Alteración de las barreras anatómicas	– EICH aguda – Inmunodeficiencia	– EICH crónica – Inmunodeficiencia
Agentes	– Bacterias – Hongos (*Candida* spp., *Aspergillus* spp.) – Virus (VHS, VRS) – Protozoos (*Toxoplasma gondii*)	– Bacterias – Hongos (*Aspergillus* spp.) – Virus (CMV, VVZ, HHV-6, VRS, adenovirus, BK virus) – Protozoos (*Toxoplasma gondii*, PC)	– Bacterias encapsuladas (*S. pneumoniae, H. influenzae*) – Hongos (*Aspergillus* spp.) – Virus (VVZ, CMV, VRS) – Protozoos (*Toxoplasma gondii*, PC)

CMV: citomegalovirus; HHV: human herpes virus; PC: *Pneumocystis carinii*; VHS: virus del herpes simple; VRS: virus respiratorio sincitial; VVZ: virus de la varicela-zoster.

adenovirus o virus BK, la neumonía por *Pneumocystis jiroveci*, la candidiasis diseminada y la aspergilosis con afección pulmonar o de senos paranasales. Esta última, aunque sólo afecta al 5-15% de pacientes, es la infección más temida de este período, con una mortalidad cercana al 80%. Al adquirirse por inhalación, el tratamiento del aire que rodea al paciente tiene una especial relevancia en la prevención de esta complicación. Por ello, durante el ingreso hospitalario, se tiende a aislar a los pacientes en unidades dotadas de aire tratado mediante filtros de alta eficacia que retienen el 99,97% de las partículas en suspensión de más de 0,3 µm, y eliminan bacterias, hongos e incluso virus. Una vez establecida la infección, las posibilidades de éxito terapéutico radican en un diagnóstico precoz, el empleo temprano de antifúngicos en dosis plenas, y la recuperación de la neutropenia. Recientemente, se han descrito técnicas de detección de antígenos (galactomanano) y de biología molecular (PCR) que, probablemente, permitan realizar un diagnóstico precoz. Si existe una lesión única debe plantearse la exéresis quirúrgica. Hasta hace poco tiempo, el empleo de dosis elevadas de anfotericina B, o en su defecto una formulación lipídica o liposómica de dicho antifúngico, era el tratamiento de elección. Actualmente, un nuevo azol, el voriconazol, ha mostrado ser superior a la anfotericina B en el tratamiento de la aspergilosis. Las equinocandinas, un nuevo grupo de antifúngicos, también son eficaces en el tratamiento de la aspergilosis refractaria a la anfotericina B. Si persiste la neutropenia, puede ser de utilidad administrar factores de crecimiento hematopoyético[26].

El citomegalovirus (CMV) es uno de los agentes infecciosos más frecuentes en el TPH alogénico. En la mayor parte de los casos, la infección es consecuencia de la reactivación de un virus endógeno mantenido en estado latente. Por ello, es fundamental conocer el estado serológico del paciente antes del TPH, ya que los seropositivos serán los de mayor riesgo de presentar esta complicación. Si el enfermo es seronegativo, podrá evitarse la primoinfección a través de transfusiones mediante el empleo de productos seronegativos o desleucocitados. Las consecuencias clínicas de esta infección-reactivación oscilan entre una infección asintomática y una enfermedad citomegálica más o menos grave, en función de los órganos afectados. La neumonía intersticial por CMV es, por su frecuencia y gravedad, la principal forma clínica de dicha enfermedad. El diagnóstico temprano de la infección, mediante técnicas de detección de antígenos y PCR en sangre o en el lavado broncoalveolar, permite el tratamiento preventivo precoz con ganciclovir o foscarnet y, con ello, evitar el desarrollo de enfermedad citomegálica en la mayor parte de los casos. La neumonía intersticial por CMV requiere tratamiento con ganciclovir y dosis altas de inmunoglobulinas inespecíficas, asociación que permite resolver el 40% de los episodios[27]. Para prevenir la infección por *Pneumocystis jiroveci* suele administrarse trimetoprima-sulfametoxazol por vía oral (o pentamidina inhalada) durante un mínimo de 6 meses o mientras exista una EICH activa o tratamiento inmunodepresor intensivo.

Período tardío (a partir del día +100)

Las infecciones en este período se producen como consecuencia de la inmunodepresión que acompaña a la EICH crónica. Se caracteriza por infecciones secundarias a bacterias encapsuladas (*Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae*), *Aspergillus*, *Pneumocystis jiroveci* y el virus de la varicela-zoster. Por ello, se recomienda la inmunización activa con vacunas de todos los pacientes a partir de los 6 a 12 meses del TPH, y la profilaxis con antibióticos orales activos frente a los gérmenes encapsulados en los pacientes con EICH crónica. En los pacientes seropositivos puede producirse una infección por *Toxoplasma gondii* en cualquier período post-TPH. Al ser una infección potencialmente grave, pero curable con un adecuado tratamiento (sulfadiazina y pirimetamina), es fundamental un diagnóstico temprano.

Complicaciones de origen inmunológico

Rechazo del injerto. Fallo primario del implante

El rechazo del injerto se produce por la inmunidad residual del receptor, que reconoce como extraños a los progenitores hematopoyéticos implantados. Por el contrario, el fallo del implante puede deberse a un número insuficiente de células madre, a la falta de una población determinada de linfocitos imprescindible para el implante, o a la mielotoxicidad de un fármaco o de un agente infeccioso, o a un microambiente medular inadecuado. A pesar de los distintos mecanismos patogénicos, desde el punto de vista clínico no es posible diferenciar ambas entidades, y debe recurrirse a los estudios de quimerismo antes mencionados. Su incidencia es baja (1-2%) y se observa casi exclusivamente en los TPH efectuados para el tratamiento de una aplasia medular grave, en los realizados a partir de donantes no emparentados o de unidades de sangre de cordón umbilical, o en aquellos que reciben progenitores hematopoyéticos con escasos linfocitos T. Su profilaxis se basa en aumentar la capacidad inmunodepresora del esquema de acondicionamiento[28].

Enfermedad del injerto contra el huésped

Es la complicación más temible del TPH alogénico. Las citocinas (interleucinas, interferones, factor de necrosis tumoral, entre otras), liberadas de forma masiva como consecuencia de la toxicidad directa del tratamiento de acondicionamiento sobre los tejidos, y de la proliferación clonal y diferenciación de los linfocitos T del donante al reconocer como extraños a los antígenos de histocompatibilidad del receptor, son responsables, junto con los linfocitos T citotóxicos resultantes de este reconocimiento antigénico, de la agresión de los diversos órganos diana de esta enfermedad[29,30].

Frecuencia, cuadro clínico y factores de riesgo

Se reconocen dos formas clínicas de EICH: aguda y crónica. La EICH aguda se produce en el 40-60% de los pacientes, y es causa de muerte en más del 20% de los casos. Sus órganos diana fundamentales son la piel, el hígado y el intestino. La afección cutánea suele manifestarse por un exantema maculopapular predominante en las palmas de las manos, las plantas de los pies, la región retroauricular, la cara interna de los muslos y la zona del escote. En casos graves, estas lesiones son más extensas y puede aparecer una eritrodermia generalizada e incluso epidermólisis. La afección hepática se traduce clínicamente por ictericia, consecuencia de colestasis intrahepática, y la intestinal, por un cuadro diarreico de intensidad variable, que puede llegar a ser coleriforme. En la tabla 39.12 se exponen los criterios clínicos utilizados internacionalmente para la gradación de la EICH aguda. Esta complicación aparece con mayor frecuencia y gravedad en los individuos de más edad y en los varones que reciben pro-

TABLA 39.12

Gradación clínica de la EICH aguda

Órgano	Grado	Características
Piel	+	Eritema maculopapuloso en < 25% de la superficie corporal
	++	Eritema maculopapuloso en 25-50% de la superficie corporal
	+++	Eritrodermia generalizada
	++++	Eritrodermia generalizada con vesículas y descamación
Hígado	+	Bilirrubina entre 2 y 3 mg/dL
	++	Bilirrubina entre 3,1 y 6 mg/dL
	+++	Bilirrubina entre 6,1 y 15 mg/dL
	++++	Bilirrubina > 15 mg/dL
Intestino	+	Diarrea 500-1.000 mL/día
	++	Diarrea 1.000-1.500 mL/día
	+++	Diarrea > 1.500 mL/día
	++++	Dolor abdominal intenso con o sin íleo intestinal

Grado	Piel		Hígado		Intestino	AEG
Grado I	+/++	y	0	y	0	0
Grado II	+/++/+++	y	+	y/o	+	+
	+++ aislada			o	+ por biopsia	
Grado III	++/+++	y	++/+++	y/o	++/+++	++
Grado IV	++/+++/++++	y	++/+++/++++	y/o	++/+++/++++	+++

AEG: afección del estado general.

genitores hematopoyéticos procedentes de donantes mujeres, en especial si éstas han tenido embarazos o transfusiones previas (aloinmunización), pero el principal factor de riesgo es la disparidad en el sistema HLA entre el donante y el receptor.

La EICH crónica se manifiesta como una afección multisistémica que puede aparecer a continuación de una forma aguda, después de la resolución de la misma, o bien surgir *de novo*. La presentan el 20-50% de los supervivientes a largo plazo. Su clínica y alteraciones anatomopatológicas se asemejan a diversas enfermedades autoinmunes, como la esclerodermia, el lupus eritematoso sistémico, la cirrosis biliar primaria, el esprue, la miastenia o el síndrome de Sjögren. Los órganos afectados con mayor frecuencia son piel, boca, hígado, ojos, esófago y aparato respiratorio. En función de su gravedad se reconocen dos formas clínicas, limitada y extensa (tabla 39.13). Hasta el 50% de los pacientes con EICH crónica extensa fallecerán por esta complicación.

Profilaxis

Dado que el tratamiento de la EICH no es siempre eficaz, es necesario adoptar medidas de tipo profiláctico. La ciclosporina A (CsA) y el tacrolimus son los fármacos más eficaces para su prevención, en especial cuando se utilizan asociados con metotrexato. En la actualidad se dispone de un nuevo fármaco inmunodepresor, el micofenolato de mofetilo (MMF), que quizá pueda llegar a sustituir al metotrexato, evitando los efectos secundarios de éste. Otro tipo de profilaxis, objeto de numerosas investigaciones, consiste en reducir *ex vivo* la cantidad de linfocitos T presentes en el inóculo.

Tratamiento

El tratamiento de elección de la EICH aguda es la metilprednisolona en dosis elevadas (2 mg/kg/día); con ello, el 50-60% de los pacientes con EICH aguda de grado II-IV logrará la resolución del cuadro. Los restantes pacientes requerirán tratamiento de segunda línea. La globulina antitimocítica (ATG) y el MMF son los más empleados y efectivos. Los AcMo (antirreceptor de interleucina-2, anti-CD3, anti-TNF, entre otros) ofrecen normalmente respuestas transitorias. La EICH crónica suele tratarse con notable éxito mediante la combinación de prednisona y CsA. En función de la gravedad pueden asociarse otros inmunodepresores, como azatioprina, MMF, talidomida o hidroxicloroquina, así como fototerapia extracorpórea o PUVA, que se han mostrado ocasionalmente efectivos.

Efecto antileucémico

Se ha comprobado que los pacientes que presentan una EICH aguda y/o crónica tienen menor probabilidad de recidiva leucémica. Por el contrario, en los trasplantes singénicos, o en aquellos en los que se efectúa una reducción de linfocitos T del inóculo, la probabilidad de recidiva se incrementa notablemente. De igual modo, los pacientes que reciben un TPH alogénico y no desarrollan una EICH clínica tienen menor riesgo de recidiva que los tratados con TPH singénico o autogénico. Todo ello indica que el efecto antitumoral del injerto es independiente del desarrollo de EICH clínica, si bien los pacientes que presentan esta complicación tienen un mayor efecto antitumoral (fig. 39.2).

Alteraciones inmunológicas

Sea cual sea el tipo de trasplante realizado, los pacientes no recuperan su inmunidad celular y humoral hasta transcurridos como mínimo 6-9 meses del TPH. Este período es mucho mayor en los que desarrollan una EICH crónica, lo que justifica la elevada incidencia de infecciones tardías durante el curso de esta complicación. También se han observado diver-

TABLA 39.13

Gradación clínica de la EICH crónica

Formas clínicas limitadas

Pacientes con alguna de las manifestaciones siguientes y una biopsia cutánea, labial o de mucosa vaginal positiva, en ausencia de otras manifestaciones de EICHc:

1) Afección oral
2) Alteración moderada de la biología hepática (≤ 2 × valor normal FA o ≤ 3 × ALT)
3) Menos de 6 lesiones papuloescamosas, o rash maculopapular o liquenoide afectando < 20% SC, despigmentación afectando < 20% SC o eritema afectando < 50% SC
4) Síndrome seco ocular (Schirmer ≤ 5 mm con síntomas oculares mínimos)
5) Alteraciones vaginales o vulvares

Formas clínicas extensas

1) Afección de 2 o más órganos con biopsia de EICHc en cualquier órgano
2) Índice de Karnofsky o Lansky < 60%, pérdida peso ≥ 15%, e infecciones recurrentes no atribuibles a otras causas, con biopsia de EICHc en cualquier órgano
3) Afección cutánea más extensa que en la forma limitada, confirmada por biopsia
4) Esclerodermia o morfea
5) Onicólisis u onicodistrofia con documentación de EICHc en cualquier órgano
6) ↓ de la extensión de muñecas o tobillos debido a fascitis producida por EICHc
7) Contracturas atribuibles a EICHc
8) Bronquiolitis obliterante no atribuible a otra causa
9) Biopsia hepática de EICHc o > 2 × valores normales FA o 3 × AST o ALT, bilirrubina > 1,6, y documentación de EICHc en cualquier órgano
10) Biopsia positiva de tracto GI superior o inferior
11) Fascitis o serositis no atribuible a otras causas

AST/ALT: GOT/GPT; EICHc: EICH crónica; FA: fosfatasa alcalina; GI: gastrointestinal; SC: superficie corporal.

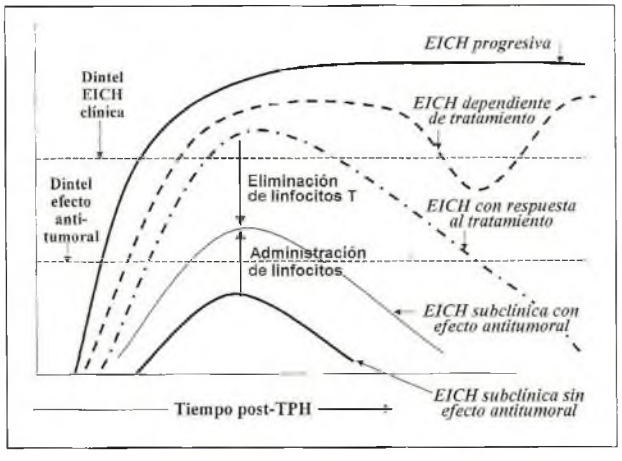


Figura 39.2. Representación gráfica de las distintas formas de presentación de las reacciones injerto contra huésped e injerto contra tumor después de un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, así como las posibles intervenciones que permiten modificar dichas reacciones.

sos fenómenos autoinmunes (anemia hemolítica, trombocitopenia, miastenia *gravis*, polimiositis), así como la transmisión desde el donante al receptor de enfermedades alérgicas (asma, hipersensibilidad) y autoinmunes (tiroiditis, diabetes).

Complicaciones tardías del TPH[31]

Alteraciones endocrinas

Los pacientes que reciben irradiación corporal total, y en menor grado los que reciben únicamente quimioterapia, pueden desarrollar trastornos endocrinos diversos. Así, el 7-15% de los enfermos desarrollará un hipotiroidismo subclínico, que no suele requerir tratamiento, y un 15% adicional precisará tratamiento sustitutivo a los 1-7 años del TPH. Hasta el 80% de los niños muestran, cuando alcanzan la edad adulta, percentiles de crecimiento inferiores a los observados en la población general. Esta alteración es más acusada en los que reciben el TPH antes de los 10 años y en los tratados con radioterapia. Por ello, en los niños, se prefieren las pautas de acondicionamiento que no incluyen radioterapia. Esta alteración del crecimiento parece tener un origen multifactorial, no siendo sólo atribuible a un déficit de hormona del crecimiento; por ello, la respuesta al tratamiento sustitutivo es variable. El tratamiento de acondicionamiento también origina disfunción gonadal y esterilidad. La disfunción gonadal es de intensidad variable en función de la edad del paciente y del tratamiento de acondicionamiento recibido. En las mujeres adultas, la insuficiencia ovárica suele ser irreversible, mientras que en las niñas en edad prepuberal existe la remota posibilidad de recuperación de la función ovárica. La mayoría de las mujeres precisarán tratamiento hormonal sustitutivo, bien para inducir la pubertad, bien para mantener los ciclos menstruales y evitar la osteoporosis. En los varones, la producción de testosterona no suele verse afectada, por lo que no suelen requerir tratamiento sustitutivo para un adecuado desarrollo sexual. Por el contrario, la espermatogénesis suele verse muy afectada o anulada por completo. Por ello, si es viable, debe recomendarse a todos los pacientes jóvenes la criopreservación de semen antes del TPH.

Cataratas

La probabilidad de que un paciente que recibe irradiación corporal total administrada en dosis única presente esta complicación es superior al 90% a los 3-4 años del TPH. El fraccionamiento de la dosis ha reducido esta incidencia al 30% a los 3 años, pero a los 10 años del TPH se mantiene en el 80%. El tratamiento con glucocorticoides favorece el desarrollo de esta complicación.

Otras complicaciones tardías menos frecuentes

Las más destacables son: *a*) enfermedad pulmonar restrictiva, presentada por la mayor parte de los pacientes que han recibido irradiación corporal total, si bien suele ser asintomática y mejorar con los años; *b*) enfermedad pulmonar obstructiva, detectada hasta en el 20% de los supervivientes a largo plazo, que comporta una elevada morbilidad y mortalidad; *c*) necrosis ósea avascular, observada hasta en el 10% de los pacientes tras una media de 18 meses del TPH (las cabezas femorales son la zona más frecuentemente afectada); *d*) osteoporosis, empleando los criterios de la OMS, a los 1-2 años del TPH el 50% de los pacientes muestran una baja densidad ósea, el 30% osteopenia y el 10% osteoporosis franca;

e) trastornos de la dentición, tanto por anormal desarrollo en los niños como por la aparición de caries, y *f*) hemosiderosis, de causa no bien aclarada, sin aparente correlación con el número de transfusiones, observada, en mayor o menor grado, en más del 80% de los pacientes; requiere flebotomías para evitar la alteración funcional de los diversos órganos en los que se deposita el hierro.

Segundas neoplasias

Es frecuente incluir la recidiva de la enfermedad de base entre las complicaciones del TPH, aunque ello puede ser discutible. Sin embargo, después del TPH pueden aparecer auténticas segundas neoplasias, atribuibles al empleo de agentes alquilantes, radioterapia e inmunodepresión prolongada. Suele tratarse de linfomas (incidencia acumulada del 1% a los 10 años del TPH), leucemias agudas secundarias y síndromes mielodisplásicos (se producen, fundamentalmente, tras TPH autogénicos por linfomas y enfermedad de Hodgkin; incidencia acumulada del 14-18% a los 5 años) y tumores sólidos (en especial, melanomas, carcinomas cutaneomucosos y neoplasias del sistema nervioso central, huesos y tiroides; incidencia acumulada del 2 y del 7% a los 10 y 15 años del TPH, respectivamente)[32].

INMUNOTERAPIA CELULAR

La observación del efecto injerto contra tumor y su relación con la EICH, así como la estrecha relación entre esta complicación y la cantidad de linfocitos T administrados (v. fig. 39.2), hizo que se intentaran controlar las recidivas leucémicas postrasplante mediante la infusión de linfocitos del donante (ILD). Esta medida se ha mostrado especialmente efectiva en la leucemia mieloide crónica (LMC), en la que se logran hasta el 80% de respuestas persistentes. Aunque existe menos experiencia, también parece efectiva en entidades como la enfermedad de Hodgkin, el mieloma múltiple y determinados linfomas. En las leucemias agudas mieloides tan sólo se muestra eficaz si antes se ha conseguido una buena remisión de la enfermedad con quimioterapia, y en las linfoides parece poco efectiva. La ILD no está exenta de riesgos, y puede desencadenar una EICH aguda o crónica y una pancitopenia intensa, complicaciones ambas que pueden producir la muerte en el 10-20% de los casos. La dosis de linfocitos T necesaria para inducir un efecto antileucémico en la LMC sin producir EICH es de 1×10^7 células T por kilogramo de peso del receptor para, en caso de no obtenerse respuesta, escalar la dosis hasta llegar a 2×10^8 células T/kg. Esta dosis se emplea desde el inicio en enfermedades con menos sensibilidad al efecto antileucémico. Otra aplicación en la que la ILD se ha mostrado muy eficaz es el tratamiento de los linfomas postrasplante asociados al virus de Epstein-Barr (VEB). Finalmente, la ILD se emplea habitualmente en los TIR para lograr que los pacientes con un quimerismo mixto linfoide post-TPH alcancen un quimerismo completo, situación en la que el efecto antitumoral del injerto será máximo[33].

TABLA 39.14

Probabilidad actuarial de supervivencia a los 3 años del TPH alogénico a partir de un hermano HLA idéntico (resultados del International Bone Marrow Transplant Registry, 2002)

Enfermedad	Fase	Pacientes	SRV a 3 años
Leucemia mieloblástica aguda	RC 1	3.298	60%
	RC > 1	837	44%
Leucemia linfoblástica aguda	RC 1 edad ≤ 20 años	561	61%
	RC 1 edad > 20 años	909	48%
	RC > 1 edad ≤ 20 años	962	47%
	RC > 1 edad > 20 años	388	30%
Leucemia mieloide crónica	FC 1 Dx-Tx ≤ 1 año	2.876	69%
	FC 1 Dx-Tx > 1 año	1.391	57%
LLC	Todas las fases	316	47%
Síndromes mielodisplásicos	AR/ARS edad ≤ 20 años	48	73%
	AR/ARS edad > 20 años	255	49%
	AREB/AREB-t edad ≤ 20 años	97	52%
	AREB/AREB-t edad > 20 años	695	37%
Aplasia medular grave	Edad ≤ 20 años	844	76%
	Edad > 20 años	845	67%
Anemia de Fanconi	Edad ≤ 10 años	104	81%
	Edad > 10 años	100	69%
Linfoma folicular	Todas las fases	403	60%
Linfoma difuso de células grandes	RC	25	46%
	REC	177	32%
	RES	124	24%
Mieloma múltiple	Dx-Tx < 18 meses	642	47%
	Dx-Tx > 18 meses	258	38%

AR: anemia refractaria; AREB: anemia refractaria con acceso de blastos; AREB-t: anemia refractaria en transformación; ARS: anemia refractaria con sideroblastos en anillo; Dx-TX: intervalo diagnóstico-trasplante; FC1: primera fase crónica; LLC: leucemia linfática crónica; RC: remisión completa; RC1: primera remisión completa; RC > 1: segunda o posteriores remisiones; REC: en recidiva; RES: resistente; SRV: supervivencia.

RESULTADOS

Los resultados del TPH han mejorado notablemente a lo largo de los últimos años. Ello es consecuencia de la notable reducción en la morbilidad y mortalidad del procedimiento, gracias al empleo de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica, de factores de crecimiento hematopoyético y de CsA como tratamiento inmunodepresor, así como de los progresos alcanzados en el conocimiento del sistema mayor de histocompatibilidad, en las medidas de profilaxis antiinfecciosa –en especial, frente al CMV– y en el soporte hemoterápico. Los resultados del TPH se exponen en los capítulos correspondientes a cada enfermedad.

En la tabla 39.14 se detallan, a título orientativo, los resultados obtenidos en distintas enfermedades con el TPH alogénico, y en la tabla 39.15, los logrados con el TPH autogénico (datos del International Bone Marrow Transplantation Registry [IBMTR])[34].

TABLA 39.15

Probabilidad actuarial de supervivencia a los 3 años del TPH autogénico (resultados del International Bone Marrow Transplant Registry, 2002)

Enfermedad	Fase	Pacientes	SRV a 3 años
Leucemia mieloide aguda	RC1 edad ≤ 20 años	209	59%
	RC1 edad > 20 años	991	50%
	RC2 edad ≤ 20 años	64	46%
	RC2 edad > 20 años	378	38%
	REC edad ≤ 20 años	29	23%
	REC edad > 20 años	244	24%
Leucemia linfoblástica aguda	RC1	187	44%
	RC > 1	168	36%
	REC	61	12%
LLC	Todas las fases	164	84%
Enfermedad de Hodgkin	RC1	184	81%
	RC2	734	76%
	REC	1.806	63%
	RES	632	55%
Linfomas foliculares	RC1	150	81%
	RC2	296	71%
	REC	894	66%
	RES	358	63%
Linfoma difuso de células grandes	RC1	362	68%
	RC2	657	53%
	REC	1.746	42%
	RES	911	49%
Mieloma múltiple	Dx-Tx < 18 meses	3.277	59%
	Dx-TX > 18 meses	1.038	48%
Neuroblastoma	En remisión persistente	412	53%
		327	41%

Dx-TX: intervalo diagnóstico-trasplante; LLC: leucemia linfática crónica; RC: remisión completa; RC1: primera remisión completa; RC > 1: segunda o posteriores remisiones; REC: en recidiva; RES: resistente; SRV: supervivencia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Santos GW. History of Bone Marrow Transplantation. Clin Haematol 1983; 12:611-639.
2. Slavin S, Morecki S, Weiss L, Shapira MY, Resnick I, Or R. Nonmyeloablative stem cell transplantation: reduced-intensity conditioning for cancer immunotherapy-from bench to patient bedside. Semin Oncol 2004; 31:4-21.
3. Blume KG, Forman SJ, Appelbaum F (eds.). Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation. Maiden (MA): Blackwell Publishing, 2004.
4. Carreras E, Brunet S, Ortega, JJ, Rovira M, Sierra J, Urbano-Ispizua A (eds.). Manual de trasplante hemopoyético. Barcelona: Antaresm 2004.
5. Markus GM, Koichi A, Irving LW. Biology of Hematopoietic Stem and Progenitor Cells. En: Blume KG, Forman SJ, Appelbaum F (eds.). Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation. Maiden (MA): Blackwell Publishing, 2004; 69-95.
6. Horowitz MM, Gale RP, Sondel PM, et al. Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation. Blood 1990; 75:555-562.
7. Sullivan KM. Graft vs. host disease. En: Blume KG, Forman SJ, Appelbaum F (eds.). Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation. Maiden (MA): Blackwell Publishing, 2004; 635-664.
8. Memoria anual REDMO. Disponible en: http://www.fcarreras.org.
9. Anasetti C. Advances in unrelated donor hematopoietic cell transplantation. Haematologica 2003; 88:246-249.
10. Memoria Anual Organización Nacional de Trasplantes. Disponible en: http://www.msc.es/Diseño/informaciónProfesional/profesional_trasplantes.htm.
11. Memoria Anual European Group for Blood and Marrow Transplantation. Disponible en: http://www.ebmt.org/4Registry/registry6.html.

CAPÍTULO 40

Inmunohematología y transfusión sanguínea en hematología clínica

R. Mazzara, M. Lozano y J. Martorell

ÍNDICE

Inmunohematología
- Grupos eritrocitarios
- Sistemas antigénicos leucocitarios y plaquetarios

Transfusión sanguínea
- Transfusión de hematíes
- Sangre total
- Concentrados de hematíes
- Hematíes desleucocitados
- Transfusión de plaquetas
- Transfusión de granulocitos
- Transfusión de linfocitos
- Tratamiento con células progenitoras hematopoyéticas
- Transfusión de plasma y sus fracciones
- Efectos adversos de la transfusión sanguínea
- Hemoderivados
- Concentrados de factores de la coagulación
- Alternativas farmacológicas a la transfusión de componentes sanguíneos
- Recambio plasmático

Bibliografía

INMUNOHEMATOLOGÍA

Los diversos grupos sanguíneos se definen por la presencia de determinados antígenos eritrocitarios, plaquetarios, leucocitarios y séricos. Dichos antígenos son el producto directo o indirecto de la actividad de los genes, y se transmiten hereditariamente según las leyes mendelianas. Los genes determinantes de los grupos sanguíneos transmiten generalmente caracteres codominantes, es decir, que se expresan tanto en individuos homocigotos como heterocigotos. No obstante, se admite que existen genes, denominados amorfos, que intervienen en la herencia de los grupos sanguíneos pero no generan productos que puedan identificarse como antígenos (gen *O*, gen *d*). Cuando la herencia de unos antígenos está relacionada con la de otros, se dice que todos ellos constituyen un sistema de grupo sanguíneo. Los genes que intervienen en la producción de los antígenos de cualquier sistema de grupo sanguíneo suelen ocupar *loci* equivalentes en pares de cromosomas homólogos. Se denomina *genotipo* a la suma de los genes heredados, y *fenotipo* al conjunto de caracteres que se expresan en un determinado individuo. Todos los antígenos de los grupos sanguíneos han sido definidos serológicamente por el hallazgo de los anticuerpos correspondientes. Cabe señalar que las combinaciones posibles entre los diferentes antígenos sanguíneos son tantas que el tipo sanguíneo puede considerarse una característica peculiar de cada individuo, prácticamente irrepetible.

El estudio de los grupos sanguíneos es de gran interés para la etnología –ya que contribuye a precisar el origen y la migración de las razas humanas– y para la medicina forense. Por otra parte, el tipo sanguíneo de cada individuo, por ser indeleble y hereditario, tiene utilidad en la investigación de la paternidad, sobre la base de que nadie puede heredar lo que sus padres no poseen. No obstante, la importancia clínica de los antígenos sanguíneos se debe a sus propiedades sensibilizantes y a la capacidad de reaccionar con sus correspondientes anticuerpos.

Grupos eritrocitarios[1,2]

Se han definido más de 400 antígenos eritrocitarios. Entre ellos existen algunos –denominados «públicos» o de alta incidencia– que están presentes en casi todos los individuos, mientras que otros son extremadamente raros, por lo que se les denomina «privados» o de baja incidencia.

En la tabla 40.1 se exponen los grupos eritrocitarios más importantes.

Antígenos y anticuerpos eritrocitarios

El conocimiento de las características de los antígenos y anticuerpos eritrocitarios es de gran trascendencia en medicina clínica, especialmente en la prevención y tratamiento de las reacciones transfusionales y de la enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN). Puesto que muchos de los antígenos eritrocitarios se hallan también ampliamente expresados en otras células y líquidos del organismo, pueden considerarse como verdaderos sistemas de histocompatibilidad que es necesario considerar al realizar trasplantes alogénicos de diversos órganos y tejidos.

La mayoría de los antígenos eritrocitarios se hallan bien expresados en el recién nacido (Rh, Kidd, Duffy, MNS), otros se expresan mucho más débilmente que en el adulto (A, B) y algunos están prácticamente ausentes (Lewis, I).

Los anticuerpos eritrocitarios están constituidos por inmunoglobulinas, fundamentalmente IgG, IgM y, más raramente, IgA. Cuando reconocen antígenos que no pertenecen al individuo que los ha producido se les denomina *aloanticuerpos*. Cuando las inmunoglobulinas sintetizadas por el organismo reaccionan contra antígenos presentes en los hematíes propios se denominan *autoanticuerpos*. El mecanismo de formación de los autoanticuerpos eritrocitarios y los trastornos a que pueden dar lugar se estudian en el capítulo dedicado a las anemias hemolíticas adquiridas.

Hay que distinguir dos tipos de aloanticuerpos: espontáneos o *naturales* y adquiridos o *inmunes*. Son aloanticuerpos naturales aquellos en los que no puede demostrarse el estímulo antigénico que ha desencadenado su formación, y se denominan *regulares* los que se observan constantemente en todos los individuos que no poseen el antígeno correspondiente. El ejemplo más claro de anticuerpo natural regular es el de las aglutininas anti-A y anti-B. Los anticuerpos naturales que no aparecen de manera constante se denominan anticuerpos naturales irregulares.

Se denominan anticuerpos inmunes aquellos que se producen como respuesta a un estímulo antigénico, provocado por transfusiones o embarazos. Relacionando las frecuencias de aparición de los distintos anticuerpos inmunes con la frecuencia de cada antígeno en la población, destacan por su elevado poder inmunógeno los antígenos D, Kell, E y c.

Los anticuerpos naturales son, generalmente, inmunoglobulinas de tipo IgM, es decir, moléculas de gran tamaño que no pueden atravesar la barrera placentaria. En cambio, los anticuerpos inmunes suelen ser inmunoglobulinas de tipo IgG, que atraviesan la barrera placentaria y pueden ocasionar EHRN en casos de incompatibilidad fetomaterna.

Las inmunoglobulinas de tipo IgM son, generalmente, anticuerpos completos, denominados así porque aglutinan en medio salino a los hematíes que poseen el antígeno correspondiente. Fijan complemento y, por esta causa, aglutinan y lisan los hematíes, con lo que se produce una rápida hemólisis intravascular. La mayoría de los anticuerpos IgM sólo son activos a temperaturas comprendidas entre 4 y 20 °C, por lo que tienen escasa trascendencia clínica (anti-Lewis, anti-P). Pero algunos son también activos a 37 °C y pueden ocasionar accidentes transfusionales muy graves por su capacidad de producir hemólisis intravascular (anti-A, anti-B, anti-AB).

Los anticuerpos IgG actúan, generalmente, a 37 °C, y son denominados habitualmente incompletos o sensibilizantes, porque se fijan a la membrana de los hematíes sin provocar su aglutinación en medio salino. Sin embargo, la sensibilización de los hematíes puede ponerse de manifiesto *in vitro* suspendiendo los hematíes en un medio de elevado peso molecular (albúmina o polímeros sintéticos) o mediante la adición de un suero antiglobulina humana o anticomplemento (prueba de Coombs). La prueba de la antiglobulina, que se describe gráficamente en la figura 40.1, utiliza como reactivo un anticuerpo capaz de unirse a las moléculas de IgG o de la fracción C3d del complemento fijadas a la membrana de los

TABLA 40.1

Principales grupos eritrocitarios

Sistema	Antígenos más importantes	Importancia clínica de los anticuerpos	
		RTH*	EHRN**
ABO	A, B, AB, O	Sí	Sí
Rh	D, C, c, E, e	Sí	Sí
MNSs	M, N, S, s, U	Sí	Sí
Lewis	Le^a, Le^b	Muy raro	No
P	P_1, P_2	Raro	No
Lutheran	Lu^a, Lu^b	Raro	Raro
Kell	K, k, Kp^a, Kp^b	Sí	Sí
Duffy	Fy^a, Fy^b	Sí	Sí
Kidd	Jk^a, Jk^b	Sí	Sí

*Reacciones transfusionales hemolíticas.

**Enfermedad hemolítica del recién nacido.

hematíes y de provocar la aglutinación de éstos. La prueba se denomina directa cuando se aplica al estudio de hematíes que pueden haber sido sensibilizados *in vivo* en el propio organismo del paciente (anemias hemolíticas autoinmunes, anemias hemolíticas inducidas por fármacos, hematíes fetales en la EHRN, hematíes incompatibles transfundidos a pacientes aloinmunizados). La prueba indirecta de la antiglobulina se emplea para poner de manifiesto, mediante el mismo procedimiento, la sensibilización de hematíes que se ha producido *in vitro* con diversos fines (investigación de anticuerpos antieritrocitarios en un suero problema, determinación del fenotipo eritrocitario mediante el empleo de anticuerpos de especificidad definida, pruebas cruzadas pretransfusionales). Generalmente, los anticuerpos incompletos no provocan una hemólisis intravascular rápida sino una hemólisis extravascular, como consecuencia de la acción del sistema mononuclear fagocítico sobre los hematíes sensibilizados.

Grupos sanguíneos y seguridad transfusional

Para evitar el desarrollo de efectos adversos es indispensable que los hematíes transfundidos no posean antígenos capaces de reaccionar con anticuerpos presentes en el receptor. Dos tipos de pruebas pretransfusionales suelen emplearse para garantizar dicha compatibilidad. Unas consisten en enfrentar *in vitro* una muestra de los hematíes que se van a transfundir con el suero del receptor; esta técnica se conoce clásicamen-

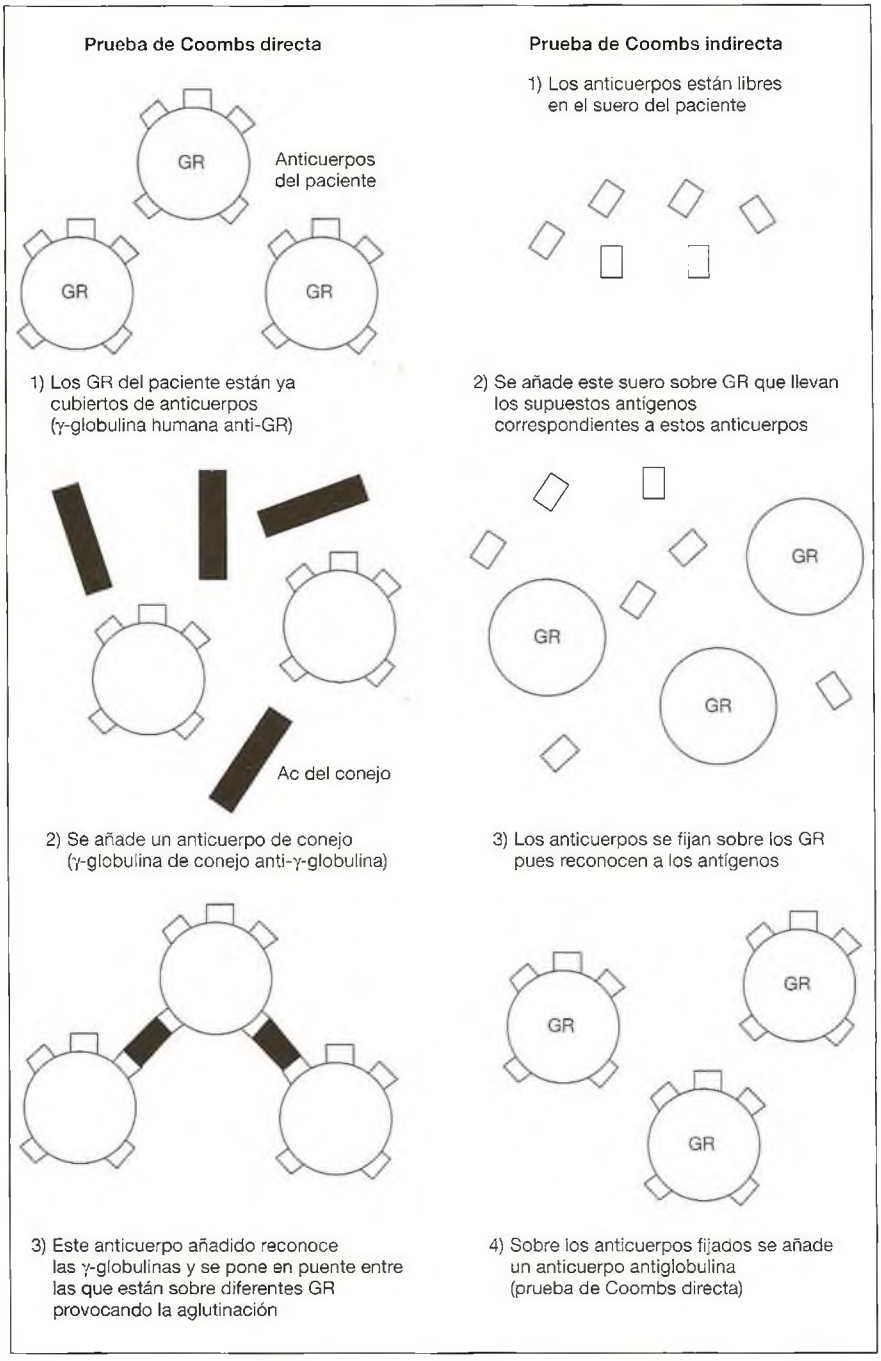


Figura 40.1. Prueba de la antiglobulina (prueba de Coombs).

te como *prueba cruzada*. Otras se basan en la tipificación ABO/Rh(D) y la investigación de anticuerpos irregulares en el receptor. Esta última técnica consiste en enfrentar el suero problema con un panel de hematíes que, en conjunto, expresan todos los antígenos eritrocitarios con trascendencia transfusional. Este método proporciona una mayor sensibilidad para la detección de anticuerpos, una disponibilidad más amplia de unidades compatibles en caso de necesidad, y un tratamiento más eficaz del stock de unidades disponibles.

Sistema ABO

El ABO fue el primer sistema antigénico eritrocitario que se describió, y sigue siendo el más importante en la práctica transfusional. Una característica de este sistema es que en el suero de cada individuo se encuentran, de manera constante, anticuerpos que reaccionan con los antígenos ausentes en sus hematíes (tabla 40.2). Esta relación recíproca se denomina «regla de Landsteiner».

TABLA 40.2

Sistema ABO. Relación entre antígenos y anticuerpos

Grupo Sanguíneo	Antígeno en los hematíes	Anticuerpo en el suero
A	A	Anti-B
B	B	Anti-A
AB	A y B	–
O	–	Anti-A y anti-B

La importancia transfusional del sistema ABO radica en las características de sus anticuerpos: naturales, regulares, activos a 37 °C y capaces de activar el complemento y de provocar una lisis intravascular de los hematíes, por lo que, si no se respetan escrupulosamente las reglas de compatibilidad, pueden producirse reacciones graves, incluso fatales, ya en la primera transfusión.

Los antígenos del sistema ABO están ampliamente distribuidos en los tejidos del organismo, especialmente en las células epiteliales y endoteliales, y también en forma soluble en algunas de sus secreciones. Más que eritrocitarios, deben ser considerados antígenos «histohemáticos», de singular importancia como sistema de histocompatibilidad. No se encuentran totalmente desarrollados en el recién nacido, y los anticuerpos naturales no se detectan en el suero antes de transcurrir 2 o 3 meses desde el nacimiento.

Genética del sistema ABO. Interacción con el sistema Hh

El grupo sanguíneo ABO se transmite hereditariamente siguiendo las leyes de Mendel. Intervienen tres genes alelomórficos independientes, denominados *A, B* y *O*, que se sitúan en un mismo *locus* del cromosoma 9. Los genes *A* y *B* son codominantes, y producen enzimas que actúan como transferasas específicas, capaces de transformar parcialmente una sustancia presente en todos los hematíes, denominada H, fijando sobre ella un azúcar determinado que le confiere la especificidad antigénica final, A o B. El gen *O* parece ser amorfo, puesto que no expresa ningún producto ni siquiera en estado homocigoto y, por esta razón, no produce modificación alguna de la sustancia H. Por ello, en los hematíes de los individuos del grupo O se encuentran grandes cantidades de sustancia H. Ésta, que presenta también propiedades antigénicas, es el producto de la transformación de una sustancia precursora constituida por cadenas de oligosacáridos, como resultado de la acción de una enzima producida por un sistema genético constituido por dos alelos (*H* y *h*) que se localizan en el cromosoma 19. El gen *H* es dominante y de muy alta frecuencia, mientras que el gen *h* es muy raro y se considera silencioso o amorfo, ya que no se le atribuye ningún producto. Los individuos con genotipo *HH* o *Hh* producen la enzima que transforma la sustancia precursora en sustancia H. Los rarísimos individuos con genotipo *hh*, en cambio, no producen dicha enzima y, por este motivo, son incapaces de modificar la sustancia precursora. Esto condiciona que los genes del sistema ABO tampoco puedan expresarse en ellos, como consecuencia de la falta de sustrato sobre el cual actuar, por lo que estos individuos, cuyo fenotipo es denominado *Bombay*, parecen ser del grupo O. No obstante, carecen completamente de sustancia H en los hematíes y presentan de manera constante en el suero, además de anti-A y anti-B, un anticuerpo natural anti-H muy activo a 37 °C, que es capaz de hemolizar los hematíes de cualquier individuo que no sea de fenotipo Bombay.

La relación entre los sistemas ABO y Hh se esquematiza en la figura 40.2.

Expresiones fenotípicas del sistema ABO. Subgrupos de A y de B

Cada individuo hereda dos genes del sistema ABO, uno de cada progenitor, los cuales determinan qué antígenos estarán presentes en los hematíes. Las combinaciones posibles dan lugar a los cuatro grupos clásicos, cuyas frecuencias relativas en España se exponen en la tabla 40.3.

Del fenotipo A se pueden distinguir dos subgrupos principales, A_1 y A_2, que son expresión de dos alelos. Ambas formas del antígeno A son reconocidas por el anti-A natural de los individuos del grupo B o del grupo O, aunque los hematíes A_1 reaccionan más intensamente que los A_2, pero serológicamente se diferencian por su comportamiento frente a extractos vegetales denominados *lectinas*.

El antígeno A_1 reacciona con la lectina obtenida de *Dolichos biflorus* (anti-A_1), pero apenas lo hace con la lectina de *Ulex europaeus* (anti-H). Por el contrario, el antígeno A_2 no reacciona con la lectina de *Dolichos biflorus* pero sí lo hace con la de *Ulex europaeus*. Aproximadamente el 80% de los individuos A son A_1. Alrededor del 2% de los individuos A_2 y del 25% de los A_2B presentan en el suero un anticuerpo natural anti-A_1, pero éste no suele tener trascendencia transfusional porque generalmente no es activo a temperaturas superiores a 25 °C.

Se han descrito numerosas variantes de las expresiones fenotípicas del antígeno A (A_3, A_x, A_{end}, A_m, A_y, A_{el}) y del antígeno B (B_3, B_x, B_m, B_{el}), que se comportan como antígenos débiles. Su consideración está fuera de los objetivos de este texto.

Anticuerpos del sistema ABO. Regla transfusional básica

Ya se ha mencionado que la importancia transfusional del sistema ABO radica en las características de sus anticuerpos. Los anticuerpos naturales son, predominantemente, de natu-

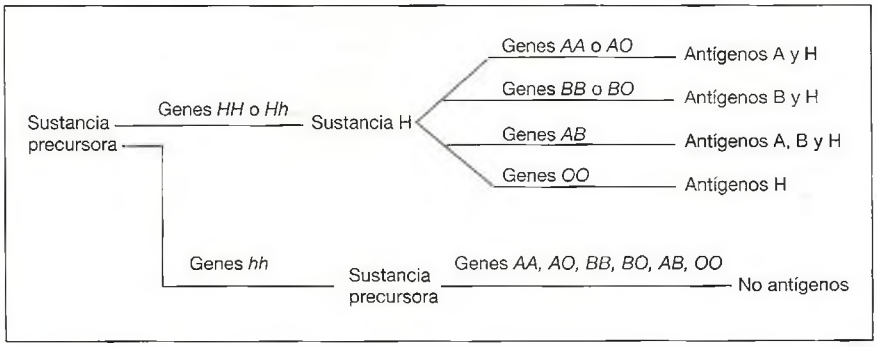


Figura 40.2. Genética del sistema ABO.

TABLA 40.3

Sistema ABO. Genotipos posibles para cada fenotipo

Fenotipo	Genotipos posibles	Frecuencia (%)*
A_1	A_1A_1	45,5
	A_1A_2	
	A_1O	
A_2	A_2A_2	
	A_2O	
B	*BB*	8,7
	BO	
A_1B	A_1B	3,6
A_2B	A_2B	
O	*OO*	42,2

*Frecuencia estimada en la población española.

raleza IgM y, aunque su temperatura óptima de actividad es de 4 °C, tienen una gran amplitud térmica y continúan siendo activos y aglutinantes a 37 °C. Merece destacarse el hecho de que los individuos del grupo O presentan, por lo general, cantidades apreciables de anticuerpos anti-A y anti-B de naturaleza IgG. A diferencia de la IgM, la IgG es capaz de atravesar la barrera placentaria y puede causar EHRN por incompatibilidad ABO. Por este motivo, este trastorno suele observarse casi exclusivamente en niños nacidos de madres del grupo O. En estos casos de incompatibilidad ABO el primer hijo tiene la misma probabilidad que los siguientes de resultar afectado.

Es preferible que las transfusiones se realicen siempre con hematíes del mismo grupo ABO que el receptor. Cuando el respeto a esta norma resulte imposible, deben seleccionarse concentrados de hematíes compatibles, aplicando esta regla básica: no deben transfundirse hematíes contra los cuales el receptor posea anticuerpos. La figura 40.3 esquematiza la aplicación de esta regla transfusional. Si se transfunde sangre incompatible por el sistema ABO, se produce una reacción transfusional hemolítica que suele ser inmediata y muy grave. Una reacción similar, aunque más moderada, puede producirse al transfundir plasma incompatible con los hematíes del receptor.

La característica de los anticuerpos del sistema ABO de ser regulares, permite la doble determinación del fenotipo mediante pruebas globulares y séricas (tabla 40.4). Debe tenerse en cuenta que esta doble determinación no es aplicable en los recién nacidos, en los que la determinación sérica no resulta posible, puesto que los anticuerpos del sistema comienzan a aparecer, generalmente, después de los 3 meses de edad, alcanzándose el título máximo entre los 5 y los 10 años.

Localización de los antígenos del sistema ABO

Los antígenos del sistema ABO tienen, como ya se ha señalado, una amplia distribución en el organismo. Se encuentran en la membrana de los hematíes, de las plaquetas y de los leucocitos, aunque la expresión antigénica es menor en estos dos últimos casos. También se ha demostrado la presencia de estos antígenos en el endotelio vascular, en los epitelios digestivo, urinario, respiratorio, genital y cutáneo, en el glomérulo renal y en las glándulas mucosas del tubo digestivo y de los aparatos respiratorio y genital. Se encuentran también en forma soluble en el plasma de todos los individuos, y también en la saliva y otras secreciones (sudor, lágrimas, leche, líquido seminal, etc.) de los sujetos secretores. El carácter secretor está determinado genéticamente por un sistema de transmisión mendeliana constituido por dos alelos: *Se*, de carácter dominante, y *se*, que es amorfo. El 80% de los individuos de raza blanca son secretores, porque poseen el gen *Se* de forma homocigota o heterocigota, y el 20% restante no lo son porque carecen de él al ser homocigotos para el gen *se*.

El sistema ABO en los trasplantes de órganos

Las reglas de compatibilidad descritas para la transfusión de hematíes son aplicables a los trasplantes, en especial cuando

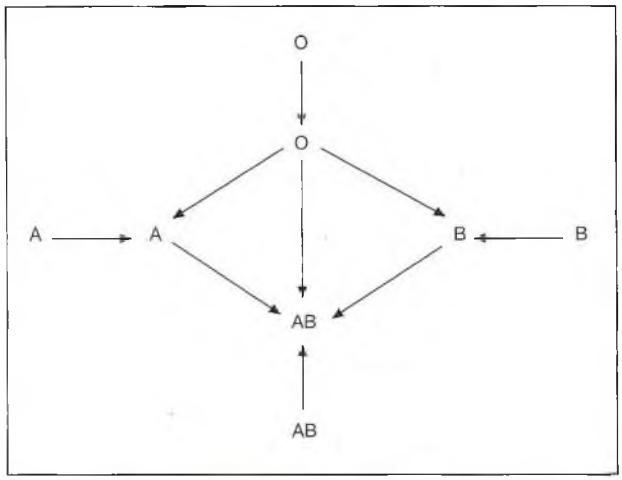


Figura 40.3. Reglas básicas de compatibilidad transfusional.

TABLA 40.4

Grupos ABO. Resultados de las determinaciones globular y sérica

Prueba globular			Prueba sérica	
Grupo	Anti-A	Anti-B	Hematíes A_1	Hematíes B
A	+	–	–	+
B	–	+	+	–
O	–	–	+	+
AB	+	+	–	–

se trata de órganos muy vascularizados, dada la importante expresión de los antígenos del sistema ABO en la superficie de las células endoteliales. Su transgresión suele provocar un rápido rechazo del injerto. En cambio, esta norma no es válida en el trasplante de médula ósea, puesto que no se han observado trastornos significativos en la evolución del trasplante, ni una incidencia mayor de complicaciones, en los casos de incompatibilidad ABO entre el donante y el receptor.

Sistema Rh

El sistema Rh está constituido por un grupo de antígenos cuya trascendencia radica en su gran capacidad inmunogénica. Éste es el motivo por el cual el sistema Rh es el segundo en importancia, después del ABO. Este conjunto de antígenos constituye, probablemente, el más complejo de todos los sistemas de grupos sanguíneos.

Antígenos del sistema Rh

Aunque se han descrito más de 40 especificidades antigénicas vinculadas con el sistema Rh, los antígenos que destacan por su apreciable significación son cinco: D, C, E, c y e. Estos antígenos y sus correspondientes anticuerpos son responsables de más del 99% de los problemas transfusionales y clínicos relacionados con el sistema Rh.

El antígeno D fue el primero en descubrirse, y es el más inmunógeno de los antígenos de este sistema. Su importancia es tal, que en la práctica la denominación «Rh-positivo» es equivalente a «D-positivo», como si fuese el único antígeno significativo de todo el sistema. De hecho, es alrededor de 20 veces más inmunógeno que el antígeno c, que es el que le sigue en importancia entre los restantes integrantes del sistema. Los individuos D-negativos que reciben una unidad de sangre D-positiva desarrollan anticuerpos anti-D en alrededor del 80% de los casos. En la práctica transfusional suele dividirse a la población en Rh-positiva (D-positiva, 85% de los individuos) y Rh-negativa (D-negativa, 15% de los casos).

Las frecuencias fenotípicas (en porcentaje) de los restantes antígenos son las siguientes: C, 70; E, 30; c, 80; e, 98. Aunque el poder inmunogénico de estos cuatro antígenos es significativamente menor que el del antígeno D, todas las especificidades han sido incriminadas en casos de EHRN y de reacciones transfusionales. Tras el antígeno D, le siguen en capacidad inmunógena, por orden decreciente, el c, el E, el e y el C.

Genética del sistema Rh

Los antígenos del sistema Rh se transmiten hereditariamente con carácter autosómico codominante mediante dos genes homólogos que asientan en el brazo corto del cromosoma 1: *RHD* y *RHCE*. Cada antígeno consiste en un mosaico de epítopos, que son reconocidos por diferentes anticuerpos.

El gen *RHD* determina la presencia del antígeno D en los hematíes, una proteína ampliamente extendida en la membrana celular. Los individuos D-positivos pueden poseer una dotación doble o simple de este gen en sus cromosomas (homocigotos o heterocigotos). En la mayor parte de los individuos D-negativos de raza blanca falta completamente el gen *RHD*, de manera que no poseen material genético alguno en el *locus* correspondiente. No obstante, se ha demostrado que el gen *RHD* puede estar presente en individuos D-negativos, pero entonces posee algún tipo de mutación que impide la expresión del antígeno, situación que parece corriente en la población negra de origen africano, en los japoneses y en los chinos.

En el *locus* adyacente al del gen *RHD*, los distintos alelos del gen *RHCE* (*RHCe, RHCE, RhcE y Rhce*) determinan la producción de los antígenos C, E, c y E. Estos alelos codifican la expresión de los antígenos C/c y E/e en un solo polipéptido.

Los hematíes expresan otra proteína vinculada con el sistema Rh, denominada RhAG (*Rh-associated glycoprotein*), cuya producción está determinada por un gen homólogo (*RHAG*) que asienta en el cromosoma 6. Se ha demostrado que esta glucoproteína no es polimórfica y no posee expresión antigénica alguna, pero es muy importante para la inserción de las proteínas correspondientes a los antígenos del sistema Rh en la membrana eritrocitaria, de forma que cualquier mutación del gen *RHAG* puede afectar la expresión de los antígenos del sistema Rh.

Variantes del antígeno RhD

La expresión del antígeno RhD puede variar, tanto cuantitativa como cualitativamente. Muchas de las observaciones realizadas en el pasado sobre bases serológicas son explicadas ahora por estudios recientes acerca de la biología molecular del sistema Rh.

Antígeno D débil (D^u)

En ocasiones, la presencia del antígeno D en los hematíes sólo puede ser demostrada mediante el empleo de procedimientos que incrementen la sensibilidad de la técnica aplicada a su determinación (incubación prolongada, empleo de medios enzimáticos, prueba de antiglobulina indirecta). Estas expresiones débiles poseen todas las características del antígeno D normal, pero cuantitativamente reducidas. Para evitar equívocos, el término D^u con que se las denominaba tradicionalmente (que podía sugerir la idea de un antígeno cualitativamente diferente de D) ha sido prácticamente abandonado en los últimos años. Los hematíes con expresiones débiles de D se clasifican actualmente como D-positivos, y se considera más apropiado denominar «D débil» a estas formas atenuadas del antígeno. Por otra parte, la avidez de los reactivos anti-D (especialmente los de tipo IgM) ha ido aumentando en estos últimos años como consecuencia de una cuidadosa selección de anticuerpos monoclonales, lo que ha reducido extraordinariamente el número de casos que actualmente se clasifican como D-débiles.

El mecanismo por el cual se producen las formas atenuadas del antígeno D no resulta claro pero, presumiblemente, éstas son consecuencia de mutaciones del gen *RHD* que comprometen la eficiencia de la expresión de la proteína

RhD, o de cambios moleculares del gen *RHAG* que afectarían la inserción del antígeno en la membrana eritrocitaria.

D-parcial

Algunos individuos inequívocamente D-positivos, cuyos hematíes pueden reaccionar incluso fuertemente con los reactivos anti-D empleados para la determinación del grupo sanguíneo, responden a la transfusión de hematíes procedentes de donantes D-positivos produciendo aloanticuerpos de especificidad anti-D que, sin embargo, no reaccionan con sus propios hematíes. Se considera que estos individuos presentan un antígeno D incompleto, con ausencia de uno o más epítopos, de forma que pueden producir anticuerpos que reconozcan la parte constitutiva del antígeno D normal que ellos no poseen. En el pasado, el fenotipo de los hematíes con formas incompletas del antígeno D fue denominado como D-variante o D-mosaico. Actualmente, se considera más apropiado denominarlo como D-parcial. La mayor parte de los hematíes con fenotipo D-parcial reaccionan fuertemente con anticuerpos anti-D, pero otros se comportan de manera similar a los hematíes de fenotipo D-débil.

Expresiones débiles del antígeno RhD. Importancia para la transfusión sanguínea

Los donantes de sangre con expresiones débiles de D deben ser considerados siempre como D-positivos puesto que, aunque sus hematíes son menos inmunógenos que los que posee un antígeno D normal, pueden provocar una aloinmunización en receptores D-negativos. También se han observado reacciones hemolíticas después de transfundir hematíes de fenotipo D-débil a receptores con anti-D.

La mayoría de los receptores con expresiones débiles de D pueden recibir sangre D-positiva sin riesgo de aloinmunización. No obstante, si la expresión débil del antígeno refleja la falta de uno o más epítopos del antígeno D, existe la posibilidad de que la transfusión de hematíes D-positivos provoque una aloinmunización anti-D. Aunque este riesgo es muy pequeño, la actitud más prudente es que estos receptores sean considerados siempre como Rh-negativos.

Antígeno G

Se han identificado anticuerpos que, superficialmente, parecen tener una especificidad anti-C+D, en los que la actividad anti-C no puede separarse de la actividad anti-D. Estos anticuerpos reaccionan, en realidad, con una estructura común a D y C, pero que no es, por tanto, ni D ni C. A esta estructura común con carácter antigénico se la denomina antígeno G. Su existencia explica que algunas personas D-negativas inmunizadas por hematíes C-negativos D-positivos desarrollen a veces anti-C+D (anti-G). Se conocen algunos raros individuos Rh-negativos portadores del antígeno G, sin D ni C. En algunas familias se ha podido identificar un fenotipo D-positivo y G-negativo.

Deleciones de antígenos

Uno de los aspectos más interesantes e ilustrativos de este sistema ha sido el hallazgo de fenotipos con deleciones (deprimidos o silenciosos), que han contribuido al conocimiento de algunos aspectos estructurales y genéticos del sistema Rh.

Existen casos de individuos que no presentan los antígenos antitéticos C/c, ni tampoco E/e, cuyo genotipo se designa como *-D-/-D-*. Estos hematíes tienen la particularidad de contener una cantidad mayor de antígeno D que los hematíes D-positivos normales.

Se han referido varias decenas de casos de personas cuyos hematíes no poseen ningún antígeno del sistema Rh. Este fenotipo es denominado Rh_{null}. En todos ellos se comprobó la existencia de alteraciones de la membrana y una disminución de la supervivencia de los hematíes. Fue constante el hallazgo de hemólisis y anemia de grado variable y de estomatocitosis, lo que demuestra que los antígenos del sistema Rh constituyen una parte de la membrana que es esencial para el mantenimiento de la estructura y la viabilidad del hematíe.

Anticuerpos Rh

Aunque se han descrito anticuerpos naturales (anti-E, anti-C^w), la mayoría de los anticuerpos del sistema Rh son inmunes y se producen como consecuencia de estímulos originados por embarazos o transfusiones. Se trata, generalmente, de anticuerpos de naturaleza IgG que, salvo excepciones, no suelen activar el complemento y no producen hemólisis intravascular. Es frecuente el desarrollo de aloanticuerpos complejos (anti-cE, anti-CD).

Algunos anticuerpos (fundamentalmente, anti-E, más raramente, anti-c o anti-e) manifiestan *fenómeno de dosis*, es decir, reaccionan con mayor intensidad cuando se enfrentan con hematíes homocigotos para el antígeno cuya especificidad reconocen.

Sistema Kell

En este sistema se han definido alrededor de 20 antígenos. Se reconocen varios *loci* y diversos pares de alelos, siendo los principales *K* y *k*, Kp^a y Kp^b, Js^a y Js^b.

El gen *K*, que codifica la producción del antígeno K (más recientemente denominado K1), que es el más importante del sistema, está presente en alrededor del 9% de la población de raza blanca y en el 2% de los individuos de raza negra. El antígeno K ocupa el segundo lugar, después del antígeno D, en cuanto a poder inmunógeno, por lo cual no resulta sorprendente que se encuentre con frecuencia anti-K en el suero de pacientes transfundidos. El anti-K puede activar el complemento y ser causa de reacciones hemolíticas graves pero, puesto que más del 90% de los donantes son K-negativos, resulta sencillo encontrar sangre compatible para los pacientes aloinmunizados. El anti-k presenta características similares, pero es extremadamente raro, ya que solamente una de cada 500 personas carece del antígeno k (actualmente, denominado K2). Por esta misma razón, resulta muy difícil encontrar sangre compatible para los individuos que han desarrollado anti-k.

La mayoría de los anticuerpos de este sistema son de tipo IgG. Pueden producir EHRN, puesto que los antígenos correspondientes están bien desarrollados en el momento del nacimiento.

Sistema Kidd

Está formado por dos alelos, Jk^a y Jk^b, de frecuencias génicas similares. La herencia tiene carácter autosómico codominante. Los antígenos de este sistema están bien desarrollados en el recién nacido, como lo demuestra la incidencia de EHRN debida a incompatibilidad fetomaterna en este sistema.

Los anticuerpos son, generalmente, de tipo IgG. A menudo presentan fenómeno de dosis, que hace difícil su determinación, y tienden a desaparecer rápidamente después de cesar el estímulo antigénico. Pueden provocar reacciones transfusionales importantes, y es desproporcionada su débil reacción *in vitro* con la violencia de sus reacciones hemolíticas tardías.

Sistema Duffy

Este sistema se definió inicialmente como dialélico (*Fy*^{a} y *Fy*^{b}) y, posteriormente, se reconocieron otros alelos. Puede presentar el fenotipo silencioso Fy(a-b-), raro en la raza blanca pero muy frecuente en la negra. Desde hace tiempo se sabe que los individuos con este fenotipo son resistentes a la infección por *Plasmodium vivax*. Este parásito sólo invade hematíes Fy^a y/o Fy^b, lo que sugiere que estos antígenos, o una estructura relacionada con ellos, actúan como receptor de membrana para la invasión parasitaria. Los antígenos Fy^a y Fy^b están bien desarrollados desde el nacimiento.

Los anticuerpos de este sistema son de naturaleza inmune y de tipo IgG. El anti-Fy^a es más frecuente que el anti-Fy^b. Estos anticuerpos han sido involucrados en reacciones hemolíticas transfusionales y en la EHRN.

Sistema MNS

En un principio, se definió como un sistema dialélico, formado por *M* y *N*, de transmisión autosómica codominante. Estudios posteriores añadieron a este sistema otro *locus* con dos alelos nuevos, *S* y *s*, estrechamente relacionados con los anteriores. Se ha comprobado un desequilibrio de asociación entre ambos *loci* que se expresa por una frecuencia cinco veces mayor del complejo genético que produce N con s con respecto al que produce N con S. El antígeno U, asociado a este sistema, es de muy alta incidencia, y se encuentra prácticamente en todos los individuos de raza blanca. Una escasa proporción de individuos de raza negra que presentan el fenotipo S-s carecen también del antígeno U.

Los anticuerpos anti-M y anti-N presentan efecto de dosis, por lo que reaccionan más intensamente con hematíes homocigotos que con heterocigotos. Es frecuente encontrar sujetos con anticuerpos anti-M que sólo reaccionan con hematíes MM. Por otra parte, este anticuerpo se encuentra con bastante frecuencia de forma natural en el suero humano, aunque sólo en raras ocasiones resulta clínicamente significativo. Esta significación debe presumirse cuando reaccionan a 37 °C o en fase de antiglobulina. El anticuerpo anti-N es mucho más raro que el anti-M, se observa casi exclusivamente en individuos S-s- que son también U-, suele ser de tipo IgM y reacciona a bajas temperaturas, comportándose como una crioaglutinina débil. El anti-S puede ser de tipo IgG o IgM. En cambio, el anti-s y el anti-U, generalmente, son de tipo IgG. Estos anticuerpos pueden estar implicados en reacciones transfusionales y en la EHRN.

Sistema P

Pertenecen a este sistema tres antígenos, P_1, P y P^k, que dan lugar a 5 fenotipos: P_1, P_2, P_1^k, P_2^k y p.

El antígeno P_1, generalmente, no está bien desarrollado en el nacimiento, y en el adulto presenta fuerza variable. El antígeno P es el único antígeno que poseen los individuos de fenotipo P_2, mientras que los de fenotipo P_1 tienen antígeno P_1 y P. El antígeno P^k es extremadamente raro, y da lugar a dos fenotipos: P_1^k (antígenos P_1 y P^k) y P_2^k (sólo antígeno P^k). Los individuos que poseen estos fenotipos presentan constantemente anti-P en el suero. En algunos casos el anti-P puede presentarse como autoanticuerpo en individuos que no son P^k, constituyendo la denominada *hemolisina bifásica de Donath-Landsteiner*. Esta hemolisina se une al complemento a temperaturas bajas y provoca hemólisis cuando los hematíes sensibilizados vuelven a estar a 37 °C. A diferencia del anti-P de tipo IgM de los individuos P^k, la hemolisina bifásica es siempre de tipo IgG.

Los individuos del rarísimo fenotipo p carecen de todos los antígenos de este sistema, y son portadores de un anticuerpo natural de naturaleza IgM, hemolítico y capaz de reconocer casi todos los hematíes humanos, con especificidad anti-PP_1P^k, que antiguamente se denominaba anti-Tj^a.

En el suero de los individuos P_2 suele hallarse frecuentemente anti-P_1 natural. Se ha afirmado que si se utilizaran técnicas suficientemente sensibles podría demostrarse la presencia de anti-P_1 en casi todos los individuos P_2. Este anticuerpo reacciona fundamentalmente a 4 °C, aunque en ocasiones mantiene su actividad a 37 °C. En muy raras ocasiones se ha incriminado a este anticuerpo como causante de reacciones hemolíticas transfusionales.

Sistema Lewis

El sistema Lewis, más que un sistema eritrocitario, constituye un sistema peculiar de antígenos solubles presentes en diferentes secreciones del organismo y en el plasma. Estos antígenos son adsorbidos del plasma por los hematíes, que adquieren así la especificidad correspondiente. El fenotipo Lewis es el resultado de la interacción de tres sistemas genéticos independientes: Hh, Lele (Lewis) y Sese (secretor). El sistema Hh codifica la producción del sustrato (sustancia H) sobre el cual actúa el sistema Lewis, como sucede también con el sistema ABO. El sistema Lewis está constituido por un par de alelos: *Le*, que es dominante, y *le*, que es amorfo. El sistema secretor está constituido también por dos alelos: *Se*, dominante, y *se*, silente. Los individuos que heredan el gen *Le* (*Le/Le* o *Le/le*) producen una transferasa que transforma el sustrato H en sustancia Le^a. La acción del gen secretor *Se* (individuos *Se/Se* o *Se/se*) convierte esta última en Le^b, con pérdida casi total de la actividad Le^a.

Los anticuerpos de este sistema son, generalmente, de tipo IgM, de aparición natural, y pueden presentar gran amplitud térmica. El anti-Le^a, que sólo puede ser hallado en individuos Le(a-b-), es relativamente frecuente, pero sólo excepcionalmente es capaz de producir reacciones transfusionales hemolíticas. El anti-Le^b es mucho menos frecuente y prácticamente no posee significación transfusional. No se han descrito casos de EHRN producidos por anticuerpos de especificidad anti-Lewis, puesto que casi siempre son de tipo IgM, incapaces de atravesar la placenta, y porque los antígenos de este sistema no están bien desarrollados al nacer.

El análisis de un número reducido de casos sugirió que los anticuerpos anti-Lewis podían ser responsables de rechazos de los trasplantes renales. Estudios prospectivos más amplios no mostraron diferencias significativas de la supervivencia del injerto en relación con la compatibilidad donante-receptor en este sistema.

Sistema Ii

Este sistema, que algunos autores no consideran como tal, sino como una «colección» de antígenos, está formado por dos antí-

genos principales, I e i, cuyos genes pueden interaccionar con los de los sistemas ABO y P formando productos intermedios.

El antígeno i se encuentra bien desarrollado en el momento del nacimiento. En cambio, el antígeno I no se manifiesta en los primeros meses de vida, pero a partir de los 18 meses empieza a aparecer, mientras va disminuyendo progresivamente el i, de forma que los hematíes de la mayoría de los adultos reaccionan muy débilmente con anti-i. El antígeno I está presente prácticamente en todos los adultos sanos y no es restrictivo de los hematíes, pues se encuentra en muchos tejidos y células del organismo. Los raros individuos adultos I-negativos suelen presentar anti-I natural en el suero, aunque con frecuencia muy débilmente reactivo. Los anti-I actúan, generalmente, a bajas temperaturas, y con frecuencia pueden encontrarse a título bajo como autoanticuerpos en la población sana. En muchos casos de enfermedad por crioaglutininas, el anticuerpo responsable posee esta especificidad, comportándose entonces como un anticuerpo fijador del complemento, con un título elevado y un margen térmico amplio.

La aparición de anticuerpos anti-i suele estar relacionada con hemopatías malignas y procesos virales. Por lo general son de tipo IgM, excepto los que aparecen a menudo transitoriamente en los pacientes con mononucleosis infecciosa, los cuales son de tipo IgG.

Sistema Lutheran

En este sistema se incluyen alrededor de 20 antígenos, la mayoría de ellos de elevada incidencia. Los dos primeros antígenos de este sistema que se descubrieron fueron Lu^a –de baja frecuencia– y Lu^b. Los anticuerpos del sistema Lutheran no son muy frecuentes, son generalmente inmunes, pero se encuentran en ocasiones como anticuerpos naturales. La mayoría de los anti-Lu^a son de tipo IgM, y no se les ha atribuido ningún caso de EHRN ni de reacciones hemolíticas postransfusionales. Los anti-Lu^b suelen ser de tipo IgG y han sido incriminados como causa de acortamiento de la supervivencia de los hematíes transfundidos y de EHRN de moderada intensidad.

Sistemas antigénicos leucocitarios y plaquetarios

La descripción del primer antígeno plaquetario por Moulinier en 1957 y del primer antígeno leucocitario por Dausset en 1958, junto con el desarrollo de nuevas técnicas para su estudio, han demostrado la gran importancia que estos sistemas poseen en el campo de la inmunohematología y de los trasplantes de órganos. Estos sistemas antigénicos son responsables de una gran diversidad de trastornos que van desde las aloinmunizaciones fetomaternas y transfusionales hasta las citopenias autoinmunes (tabla 40.5).

Sistema HLA

El sistema principal de histocompatibilidad o HLA (de *Human Leukocyte Antigens*) es un sistema antigénico constituido por un conjunto de proteínas de membrana que son extraordinariamente polimórficas.

Los leucocitos y las plaquetas, al igual que casi todas las células del organismo, expresan antígenos del sistema HLA. El extraordinario polimorfismo de estos antígenos les otorga una gran trascendencia, tanto desde el punto de vista de la medicina transfusional como para el trasplante de órganos, tejidos o células.

TABLA 40.5

Principales trastornos debidos a anticuerpos antileucocitarios y antiplaquetarios

Anticuerpos antileucocitarios
Reacciones transfusionales febriles
Síndrome pulmonar agudo postransfusional
Neutropenia neonatal aloinmune
Neutropenias autoinmunes
Refractariedad a transfusiones de plaquetas
Anticuerpos antiplaquetarios
Trombopenia neonatal aloinmune
Trombopenias autoinmunes
Púrpura postransfusional
Refractariedad a las transfusiones de plaquetas

Tipos de moléculas HLA

Existen dos clases de moléculas HLA antigénicas, las de clase I (HLA-I) y las de clase II (HLA-II). Las moléculas HLA-I se expresan en la membrana de casi todas las células del organismo (con excepción de los hematíes), están constituidas por una cadena proteica polimórfica que se asocia a la β_2-microglobulina, y están codificadas por genes presentes en tres *loci* (A, B y C). Las moléculas HLA-II, que son el producto de los genes presentes en tres *loci* (DR, DP y DQ) y se expresan en linfocitos B, macrófagos, células dendríticas, células de Langerhans, células de Kupffer y algunas células endoteliales, están constituidas por dos cadenas peptídicas potencialmente polimórficas (α y β), que son codificadas por los genes *DRA*, *DRB1*, *DPA1*, *DPB1*, *DQA1* y *DQB1*. Existen, además, otras expresiones alternativas de las moléculas HLA-II (DRB3, DRB4 y DRB5), que se asocian a moléculas DRA.

En la región HLA también se hallan codificadas las moléculas HLA-I «no clásicas», de escaso polimorfismo (HLA-E, HLA-F, HLA-G), y los denominados «MICA», antígenos polimórficos de expresión restringida a endotelios y fibroblastos, cuya expresión depende de la activación celular.

Herencia

Las moléculas HLA se expresan de forma codominante. Cada individuo posee un alelo procedente del padre y otro de la madre. Todos los *loci* del sistema HLA se encuentran en el brazo corto del cromosoma 6, y se heredan generalmente en bloque. El bloque o conjunto de alelos HLA heredado de cada uno de los progenitores se denomina *haplotipo*. Cada hijo hereda uno de los dos haplotipos maternos y uno de los dos haplotipos paternos. En consecuencia, para una misma pareja de progenitores son posibles cuatro combinaciones diferentes de los haplotipos (fig. 40.4). La probabilidad de que un individuo tenga un hermano HLA idéntico es $1-(3/4)^n$, siendo n el número de hermanos.

Ocasionalmente (en 8 de cada 1.000 casos) puede producirse un entrecruzamiento genético que implica que un haplotipo heredado puede estar formado por una combinación de los alelos de los dos haplotipos maternos (fig. 40.5) o, menos frecuentemente, de los dos haplotipos paternos.

Dentro de una población, los alelos de los diferentes genes no se asocian al azar. Existen alelos HLA-A que se aso-

cian con alelos HLA-B o HLA-DR con una frecuencia superior de la que cabría esperar en una distribución al azar. Estos «desequilibrios de ligamiento» dan lugar a que unos haplotipos sean más frecuentes que otros (p. ej., A*01-B*08-DRB1*17; A*03-B*07-DRB1*15). Un receptor con un haplotipo de alta frecuencia tiene mayores probabilidades de encontrar un donante compatible de plaquetas o de precursores hematopoyéticos que otro que no lo tenga.

Los diferentes alelos tienen frecuencias muy desiguales. Unos pueden detectarse en más del 25% de la población, mientras que otros son muy raros. Además, esta frecuencia puede variar mucho de unas poblaciones a otras. Por ello, algunos antígenos que son difíciles de encontrar en determinadas poblaciones se hallan más fácilmente en otras.

Nomenclatura del sistema HLA

Los polimorfismos fueron inicialmente identificados mediante técnicas serológicas, utilizando anticuerpos específicos, generados en mujeres embarazadas o pacientes transfundidos. Estas técnicas, que detectan los epítopos polimórficos en la proteína de la membrana celular, están siendo sustituidas por la determinación de los polimorfismos directamente en la secuencia de nucleótidos del DNA que codifica la proteína en cuestión. Las técnicas basadas en el DNA son más fiables y reproducibles que las serológicas. Este cambio tecnológico ha supuesto una transformación de la nomenclatura oficial de los alelos del sistema[3]. Así, cuando se utilizan técnicas de serología clásica se dice que se identifican especificidades HLA [p. ej., A2, B44(12), DR4, Cw7]. Cuando se utilizan técnicas que detectan el polimorfismo en la secuencia del DNA se habla de «alelos HLA», y en su denominación se incluye un asterisco entre las letras que identifican el *locus* y el número que identifica el alelo (p. ej., A*02, B*44, DRB1*04, Cw*07). En las técnicas de determinación basadas en el DNA se definen dos niveles de resolución: baja resolución y alta resolución (tabla 40.6). La baja resolución identifica grupos de alelos muy parecidos, y en su denominación se incluyen sólo dos dígitos que, en general (aunque no siempre), coinciden con los que definen la especificidad antigénica correspondiente determinada serológicamente. La alta resolución permite identificar individualmente cada uno de los diferentes alelos, que se denominan mediante cuatro dígitos (p. ej., A*0201, B*4404, DRB1*0402, Cw*0701). Dado que la definición de nuevos alelos por técnicas de DNA ha avanzado más rápidamente que la definición de especificidades por serología, hay algunos alelos que no tienen equivalente serológico reconocido. Ello implica que, para determinar la compatibilidad entre dos individuos, ambos deben ser fenotipados mediante la misma técnica[4].

Las especificidades serológicas pueden ser amplias (*broad*) si agrupan a otras subespecificidades. Las subdivisiones de estas especificidades amplias se denominan *splits* [p. ej., la especificidad *broad* A9 se subdivide en los *splits* A23(9) y A24(9)] (tabla 40.7). Los *splits* tienen algunos epítopos comunes entre sí y otros que no lo son. Las especificidades que comparten epítopos (o determinantes antigénicos), constituyen los denominados *grupos de reacción cruzada* (CREG) (p. ej., A3-A11, A2-A28, B7-B55) (tabla 40.8).

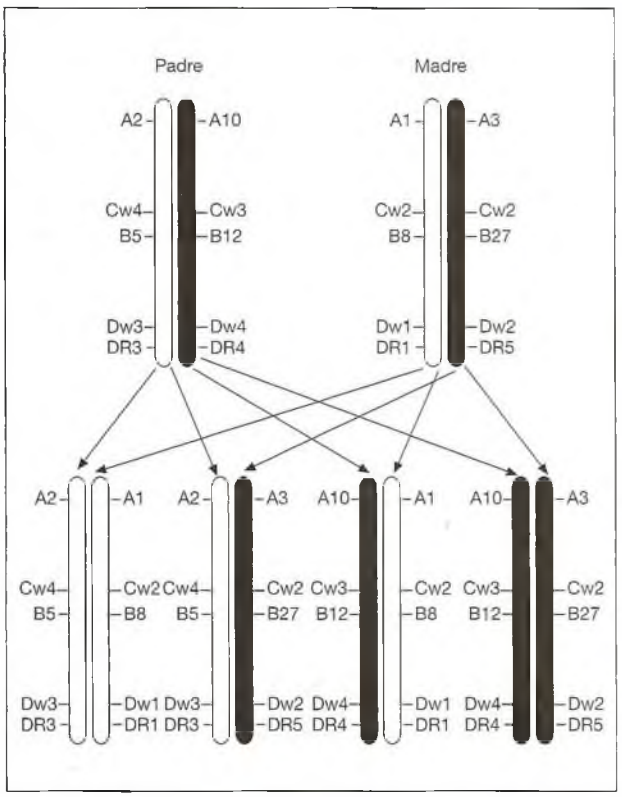


Figura 40.4. Combinaciones posibles de los haplotipos en los descendientes, si no existen recombinaciones.

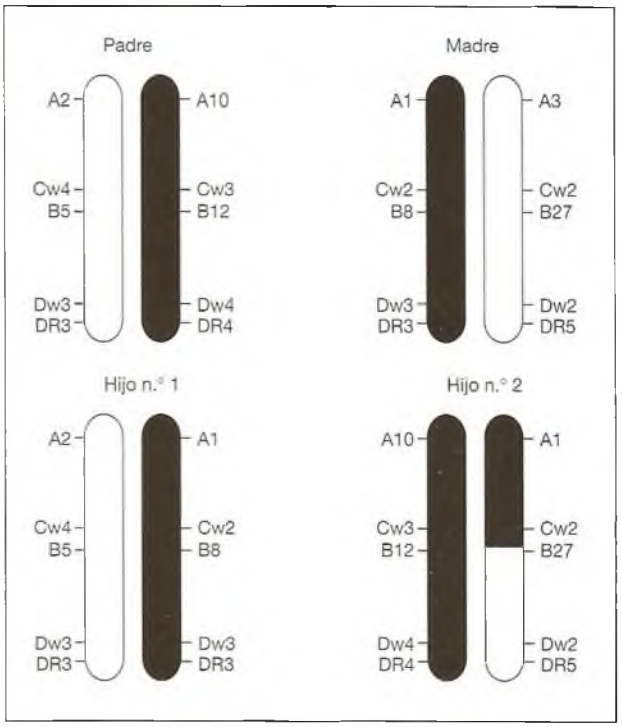


Figura 40.5. Ejemplo de recombinación en los cromosomas de la madre, produciéndose un nuevo haplotipo en el hijo (n.° 2).

Función del sistema HLA

La función fisiológica de las moléculas del sistema HLA es la de presentar los péptidos en los que las células fraccionan a los antígenos extraños.

TABLA 40.6

Ejemplos de niveles de resolución

Especificidad HLA «Broad»	Especificidad HLA «Split»	Alelos de baja resolución	Alelos de alta resolución
B22	B55 (22)	B*55	B*5501, B*5502, B*5503B*5504, B*5505, B*5507B*5508
B22	B56 (22)	B*56	B*5601, B*5602, B*5603B*5604, B*5605

Los antígenos HLA-II presentan, fundamentalmente, antígenos extracelulares (p. ej., bacterianos) procesados por las células presentadoras de antígenos (APC). Los antígenos HLA-I presentan antígenos intracelulares (p. ej., virales) que son la diana de las células citotóxicas[5].

La razón del gran polimorfismo del sistema HLA no se conoce con certeza, pero dado que unos alelos son más eficientes que otros en la presentación de determinados péptidos, el polimorfismo explica que unos individuos respondan más eficazmente que otros frente a un determinado agente infeccioso. El polimorfismo HLA facilita, pues, que la selección de mutantes virales sea diferente en cada individuo, y ello dificulta su capacidad de propagación.

Las moléculas HLA-I no clásicas (HLA-E, HLA-F, HLA-G), así como las de los antígenos MICA, podrían estar relacionadas con la inhibición de la actividad citotóxica natural o NK (de *natural killer*).

Sistema HLA y respuesta inmune

Las moléculas HLA alogénicas (es decir, pertenecientes a otro individuo de la misma especie), son reconocidas como extrañas por el sistema inmunitario del receptor, que desencadena una respuesta de rechazo.

Las moléculas HLA pueden ser procesadas por las APC del receptor y presentadas a los linfocitos T, como cualquier antígeno extracelular, por la llamada *vía indirecta*[6]. Pero su función especial de moléculas presentadoras determina que también puedan ser reconocidas directamente sobre las células del donante, mecanismo conocido como *vía directa*. Esta vía determina que la citotoxicidad celular tenga un papel especial en la respuesta alogénica, y que el número de linfocitos capaces de responder a un aloantígeno sea especialmente elevado.

Anticuerpos anti-HLA

Aproximadamente uno de cada cuatro receptores de transfusiones sanguíneas y de mujeres embarazadas desarrollan anticuerpos contra antígenos del sistema HLA. La presencia de estos anticuerpos se determina enfrentando el suero del receptor con un panel de entre 30 y 60 células de fenotipo HLA conocido, mediante la técnica de microlinfocitotoxicidad. Esta prueba, también conocida como PRA (de *Panel Reacting Antibodies*) permite: *a*) conocer si el receptor tiene anticuerpos que reaccionan contra antígenos HLA; *b*) determinar el porcentaje de células con las que reaccionan estos anticuerpos, y *c*) investigar la especificidad de estos anticuerpos, es decir, determinar contra qué antígenos reaccionan y contra cuáles no.

Estas determinaciones permiten, por ejemplo, identificar los donantes idóneos para los receptores de transfusiones de plaquetas que hayan desarrollado aloinmunización contra antígenos del sistema HLA. Si un paciente con respuesta escasa o nula a las transfusiones de plaquetas tiene anticuerpos anti-HLA, es necesario seleccionar donantes que no posean antígenos HLA contra los que dichos anticuerpos son capaces de reaccionar.

Cuando la especificidad de los anticuerpos no haya sido determinada, pueden utilizarse plaquetas con fenotipo HLA-A y HLA-B compatibles con el receptor[7], seleccionándolas mediante la realización de pruebas cruzadas entre donante y receptor.

En ocasiones, los anticuerpos reaccionan no sólo con un antígeno sino con todo un grupo de reacción cruzada (CREG), es decir, con un conjunto de antígenos con especificidades similares (tabla 40.8).

Además de la citotoxicidad, existen otras técnicas para la determinación de anticuerpos anti HLA, basadas unas en técnicas de ELISA y otras en la citometría de flujo sobre células o sobre partículas recubiertas de antígenos HLA.

Las técnicas de ELISA pueden dar resultados discordantes con los de la citotoxicidad clásica, que sigue siendo la técnica de referencia[8], como consecuencia de resultados positivos falsos o negativos falsos, que acontecen entre el 3 y el 10% de los casos, según diferentes autores. Las técnicas de ELISA no permiten realizar la prueba cruzada entre donante y receptor; para ello debe recurrirse a las técnicas de microlinfocitotoxicidad o de citometría de flujo.

Las técnicas de citometría de flujo tienen mayor sensibilidad, pero presentan discordancias con la linfocitotoxicidad, debido probablemente a la dificultad para establecer con claridad los límites que separan los resultados positivos de los negativos, y también a que la citometría detecta también anticuerpos no citotóxicos. Para aplicar esta técnica pueden emplearse partículas recubiertas de antígenos HLA purificados, que pueden incluir varios antígenos (generalmente, dos HLA-A y dos HLA-B). La especificidad se asigna por aproximación matemática, mediante tablas de contingencia 2 × 2, al igual que en la citotoxicidad, lo que resulta difícil en pacientes con anticuerpos contra más del 60% del panel. Actualmente, es posible disponer comercialmente de partículas recubiertas con un solo antígeno HLA, lo que permite superar este inconveniente.

Respuesta celular y antígenos HLA

La respuesta celular a los antígenos HLA se caracteriza por una fase de expansión dependiente del reconocimiento directo, evidenciable *in vitro* por el cultivo mixto linfocitario (CML) y una fase de citotoxicidad celular (CTL). La respuesta celular tiene gran trascendencia en el trasplante de órganos, y su control requiere la administración continuada de inmu-

TABLA 40.7

Especificidades serológicas *broad* y *splits*

A	A *broad*	B	B *broad*	B	B *broad*
A1		(B5)		B50	(B21)
A2		B7		B51	(B5)
A203	{A2}	B703	{B7}	B5102	
A210	{A2}	B8		B5103	
A3		(B12)		B52	(B5)
(A9)		B13		B53	
(A10)		(B14)		B54	(B22)
A11		(B15)		B55	(B22)
(A19)		(B16)		B56	(B22)
A23	(A9)	(B17)		B57	(B17)
A24	(A9)	B18		B58	(B17)
A25	(A10)	(B21)		B59	(B17)
A26	(A10)	(B22)		B60	(B40)
A28	(A19)	B27		B61	(B40)
A29	(A19)	B2708		B62	(B15)
A30	(A19)	B35		B63	(B15)
A31	(A19)	B37		B64	(B14)
A32	(A19)	B38	(B16)	B65	(B14)
A33	(A10)	B39	(B16)	B67	
A34	(A10)	B3901	{B16}	(B70)	
A36		B3902	{B16}	B71	(B70)
A43		(B40)		B72	(B70)
A66	(A10)	B4005	{B21}	B73	
A68	(A28)	B41		B75	(B15)
A69	(A28)	B42		B76	(B15)
A74	(A19)	B44	(B12)	B77	(B15)
A80		B45	(B12)	B78	
	B46		B81		
	B47				
	B48		(BW4)	*Público*	
	B49	(B21)	(BW6)	*Público*	

( ) Especificidad *broad* susceptible de dividirse en *splits*. En los *splits* se indica el *broad* a su derecha ({ } Asociación con un *broad*, sin ser un *split* en sentido estricto.

C	C *broad*	DR	DR *broad*	DQ	DQ *broad*
Cw1		DR1		(DQ1)	
Cw2		DR103	{DR1}	DQ2	
(Cw3)		(DR2)		(DQ3)	
Cw4		(DR3)		DQ4	
Cw5		DR4		DQ5	(DQ1)
Cw6		(DR5)		DQ6	(DQ1)
Cw7		(DR6)		DQ7	(DQ3)
Cw8		DR7		DQ8	(DQ3)
Cw9	(Cw3)	DR8		DQ9	(DQ3)
Cw10	(Cw3)	DR9			
		DR10			
		DR11	(DR5)		
		DR12	(DR5)		
		DR13	(DR6)		
		DR14	(DR6)		
		DR15	(DR2)		
		DR16	(DR2)		
		DR17	(DR3)		
		DR18	(DR3)		
		(DR51)	*Público*		
		(DR52)	*Público*		
		(DR53)	*Público*		

).

TABLA 40.8

Antígenos HLA de reacción cruzada

Locus A
1. A1, A3, A11, A36
2. A9, A23, A24
3. A10, A25, A26, A34, A43, A66
4. A19, A29, A30, A31, A32, A33, A74
5. A2, A28, A68, A69

Locus B
1. B5, B18, B35, B51, B52, B53, B70, B71, B72
2. B12, B21, B44, B45, B49, B50
3. B14, B64, B65
4. B8, B59
5. B15, B17, B46, B57, B58, B62, B70, B71, B72, B75, B76, B77
6. B16, B38, B39, B67
7. B7, B27, B42, B73
8. B7, B22, B54, B55, B56, B67
9. B7, B40, B41, B48, B60, B61
10. B13, B47

nosupresores. En cambio, tiene escasa trascendencia en las transfusiones, excepto por la posibilidad de que provoque una reacción del injerto contra el huésped, posiblemente inducida por la actividad de las células citotóxicas naturales (NK) transfundidas. Estas células poseen receptores (KIR) que son polimórficos y que reciben señales inhibitorias de las moléculas HLA-I. Si las células transfundidas no identifican en el receptor las moléculas HLA que las inhibían en el donante, pueden desencadenar reacciones del injerto contra el huésped. Esta reacción es fácilmente evitable impidiendo la proliferación de las células transfundidas mediante irradiación previa.

Aplicaciones de la determinación de los antígenos HLA

La determinación de los antígenos HLA se emplea para: *a*) hallar donantes de precursores hematopoyéticos para trasplante, que sean HLA-idénticos o compatibles con un enfermo determinado; *b*) seleccionar donantes de plaquetas compatibles con los receptores que son refractarios a las transfusiones debido a aloinmunización anti-HLA; *c*) seleccionar los receptores con mayor probabilidad de supervivencia del injerto en los trasplantes renales; *d*) identificar la susceptibilidad genética a enfermedades asociadas con un determinado alelo HLA (p. ej., HLA-B*27 y espondiloartritis, HLA-DQB1*0602 y narcolepsia, DQB1*0201 y DQA1*0501 y enfermedad celíaca); *e*) estudios de paternidad y otros de interés en Medicina Legal; *f*) estudios de genética de poblaciones, y *g*) diseño de péptidos para vacunas.

Antígenos granulocitarios

Los antígenos específicos de los neutrófilos han ido descubriéndose a partir del hallazgo de anticuerpos en casos de neutropenia neonatal aloinmune, en neutropenias autoinmunes y en reacciones transfusionales no hemolíticas. En la tabla 40.9 se enumeran los antígenos granulocitarios específicos más importantes y sus frecuencias fenotípicas estimadas en la población caucásica.

TABLA 40.9

Principales antígenos específicos de los neutrófilos

Sistema antigénico	Antígenos	Frecuencia fenotípica* (%)
HNA-1	HNA-1a	58
	HNA-1b	88
	HNA-1c	5
HNA-2	HNA-2a	97
HNA-3	HNA-3a	97
HNA-4	HNA-4a	99
HNA-5	HNA-5a	96

*En la población caucásica.

Cabe recordar que los granulocitos expresan también otros antígenos de gran importancia, como los correspondientes a las moléculas de clase I del sistema HLA.

Importancia clínica de los anticuerpos antigranulocitarios

El papel de los anticuerpos antigranulocitarios ha sido bien establecido (tabla 40.10) en algunas situaciones clínicas de singular importancia, ya sea por su frecuencia o por su potencial gravedad.

TABLA 40.10

Trastornos causados por anticuerpos antigranulocitarios

Anticuerpos	Trastorno
Anti HNA-1	Neutropenia neonatal aloinmune Neutropenia autoinmune TRALI
Anti HNA-2a	Neutropenia neonatal aloinmune Neutropenia autoinmune Neutropenia inducida por fármacos TRALI
Anti HNA-3a	TRALI
Anti HNA-4a	Neutropenia neonatal aloinmune

Papel en las reacciones transfusionales no hemolíticas

Más del 60% de las reacciones transfusionales inmediatas son debidas a la presencia de anticuerpos HLA o de anticuerpos que reaccionan con antígenos específicos de los granulocitos. Clínicamente, se manifiestan de manera variable, desde un cuadro leve con fiebre y escalofríos, que generalmente cede al detener la transfusión, hasta un cuadro grave y potencialmente fatal con afectación pulmonar, denominado síndrome pulmonar agudo transfusional (*transfusion-related acute lung injury* [TRALI]), que se caracteriza por escalofríos, fiebre, tos no productiva, disnea e hipotensión. En este trastorno, los anticuerpos responsables proceden casi siempre del plasma contenido en el componente sanguíneo transfundido.

Papel en la neutropenia neonatal aloinmune

Este trastorno, que presenta gran similitud etiopatogénica con la EHRN, es producido por la acción de anticuerpos inmunes de tipo IgG que reconocen antígenos específicos de los granulocitos, originados por aloinmunización materna y transferidos pasivamente al feto por vía transplacentaria.

Merece destacarse que, aunque la aloinmunización anti-HLA en embarazadas es muy frecuente, no se han descrito casos de neutropenia neonatal aloinmune por este tipo de anticuerpos. Esto parece ser debido a que los anticuerpos HLA son adsorbidos por la placenta, de forma que no logran pasar a la circulación fetal.

Papel en las neutropenias autoinmunes

Las formas primarias afectan de modo preferente a las mujeres, y clínicamente se manifiestan por infecciones, en especial cutáneas y de las vías respiratorias altas.

Los casos de neutropenia autoinmune secundaria suelen estar asociados a otros trastornos autoinmunes, como anemia hemolítica autoinmune, síndrome de Evans, lupus eritematoso sistémico (LES), trastornos linfoproliferativos, etc. Desde el punto de vista patogénico, estos cuadros son superponibles a los trastornos de autoinmunidad que afectan a la serie roja.

Sistemas antigénicos plaquetarios

Pueden distinguirse dos grupos de antígenos en la superficie de las plaquetas circulantes: los que ellas comparten con otros tipos de células y los que, generalmente, se consideran como específicos o exclusivos de la membrana plaquetaria. Los primeros son los implicados con mayor frecuencia en el desarrollo de refractariedad de causa inmunológica a las transfusiones de plaquetas, entre los cuales desempeñan un papel primordial los correspondientes al sistema HLA. Los antígenos específicos de las plaquetas son los principales protagonistas en la patogenia de la trombopenia neonatal aloinmune, de la púrpura postransfusional y de la púrpura trombopénica autoinmune.

Antígenos no específicos de las plaquetas

Se ha demostrado que los sistemas antigénicos eritrocitarios ABH, P, Ii y Lewis se hallan presentes en las plaquetas. En cambio, no se ha podido comprobar la presencia de otros sistemas bien representados en los hematíes (Rh, Duffy, Kell, Kidd, Lutheran).

Se ha comprobado que, prácticamente, todos los productos correspondientes a los *loci* A y B del sistema HLA se encuentran bien expresados en la membrana plaquetaria, aunque presentan una gran variabilidad individual. Los productos del *locus* C se manifiestan también en la superficie plaquetaria, pero suelen hacerlo de forma muy débil. En cambio, las plaquetas carecen de antígenos HLA de clase II. Puesto que éstos son esenciales en la patogenia de la aloinmunización anti-HLA, puede afirmarse que, en los casos de refractariedad transfusional, las plaquetas sufren las consecuencias de la presencia de anticuerpos HLA, pero no constituyen *per se* el estímulo antigénico que los origina. En este concepto se basan los intentos de evitar el desarrollo de la aloinmunización mediante el empleo de procedimientos capaces de eliminar la práctica totalidad de los leucocitos que contaminan los concentrados de plaquetas y de hematíes, puesto que ellos son los únicos elementos sanguíneos que poseen bien expresados los antígenos HLA de clase II.

Antígenos específicos de las plaquetas

Diversos sistemas antigénicos han sido definidos como específicos de las plaquetas. Hoy se sabe que muchos de ellos también pueden encontrarse, por lo menos, en las células endoteliales, los fibroblastos y las células musculares lisas. En los últimos años se ha introducido una nueva denominación de los antígenos plaquetarios específicos. Su correspondencia con la nomenclatura anterior, así como las frecuencias fenotípicas de cada uno de ellos, se exponen en la tabla 40.11. Como puede observarse, casi todos los sistemas definidos hasta hoy son bialélicos, con un alelo de alta frecuencia. Este fenómeno explica la relativa rareza de la aloinmunización antiplaquetaria, y también la extrema dificultad para hallar individuos inmunológicamente compatibles con los pacientes aloinmunizados.

El sistema PI^A, designado inicialmente Zw por Van Loghem y actualmente denominado HPA-1, es el más importante de todos los sistemas plaquetarios específicos. Está constituido por dos antígenos de transmisión genética codominante: HPA-1a (todavía denominado habitualmente PI^{A1}, sin lugar a dudas, el más inmunógeno de todos los antígenos específicos de las plaquetas), y HPA-1b (PI^{A2}). En estudios realizados en diferentes poblaciones, el antígeno PI^{A1} muestra una frecuencia muy elevada, siempre superior al 97%. Hace casi dos décadas se comprobó que las plaquetas de los pacientes con tromboastenia de Glanzmann (enfermedad hereditaria con deficiencia de la glucoproteína plaquetaria IIb-IIIa) no expresan en su membrana el antígeno PI^{A1}, o lo presentan en cantidades extremadamente reducidas. Con posterioridad, pudo determinarse que este antígeno está localizado en la glucoproteína IIIa. Por lo menos tres diferentes sistemas antigénicos específicos de las plaquetas están estructuralmente relacionados con el complejo glucoproteico IIb-IIIa, hecho de singular interés si se considera el papel fundamental que éste desempeña en la adhesión y la agregación plaquetarias. Es posible que algunos de estos antígenos cumplan una función fisiológica bien definida. Se ha referido que el anticuerpo anti-PI^{A1} puede inducir en las plaquetas PI^{A1}-positivas una disfunción similar a la observada en la enfermedad de Glanzmann. Se han comunicado numerosos hallazgos de anticuerpos con especificidad anti-PI^{A1}, casi todos ellos de naturaleza IgG.

Trascendencia clínica de los antígenos presentes en las plaquetas

Refractariedad a las transfusiones de plaquetas

El rendimiento de las transfusiones de plaquetas puede verse reducido o anulado por la acción de factores inmunológicos y no inmunológicos. Este fenómeno, conocido como *refractariedad* a las transfusiones, se observa en el 25-50% de los pacientes que requieren soporte transfusional prolongado. En muchas ocasiones, la refractariedad es una manifestación de la presencia de aloanticuerpos reactivos contra antígenos contenidos en las plaquetas transfundidas, que se desarrollan como respuesta a estímulos sensibilizantes repetidos, originados por transfusiones o embarazos previos. En la mayoría de los casos de refractariedad de causa inmunológica el conflicto está provocado por la presencia de anticuerpos que reaccionan contra antígenos HLA de clase I, aunque, en ocasiones, pueden estar implicados anticuerpos dirigidos contra antígenos específicos de las plaquetas. Si bien hasta hace algunos años al sistema eritrocitario ABO se le atribuía esca-

TABLA 40.11

Principales antígenos específicos de las plaquetas

Sistema antigénico	Antígenos	Frecuencia fenotípica* (%)
HPA-1 (Zw, PI^A)	HPA-1a (Zw^a, PI^{A1})	97,9
	HPA-1b (Zw^b, PI^{A2})	28,8
HPA-2 (Ko, Sib)	HPA-2a (Ko^b)	> 99,9
	HPA-2b (Ko^a, Sib^a)	13,2
HPA-3 (Bak, Lek)	HPA-3a (Bak^a, Lek^a)	80,95
	HPA-3b (Bak^b)	69,8
HPA-4 (Pen, Yuk)	HPA-4a (Pen^a, Yuk^b)	> 99,9
	HPA-4b (Pen^b, Yuk^a)	< 0,1
HPA-5 (Br, Zav)	HPA-5a (Br^b, Zav^b)	99,0
	HPA-5b (Br^a, Zav^a, Hc^a)	19,7
HPA-6 (Ca, Tu)	HPA-6bw (Ca^a, Tu^a)	0,7
HPA-7 (Mo)	HPA-7bw (Mo)	0,2
HPA-8 (Sr)	HPA-8bw (Sr^a)	< 0,01
HPA-9 (Max)	HPA-9bw (Max^a)	0,6
HPA-10 (La)	HPA-10bw (La^a)	< 1,6
HPA-11 (Gro)	HPA-11bw (Gro^a)	< 0,25
HPA-12 (Iy)	HPA-12bw (Iy^a)	0,4
HPA-13 (Sit)	HPA-13bw (Sit^a)	0,25
HPA-14 (Oe)	HPA-14bw (Oe^a)	< 0,17
HPA-15 (Gov)	HPA-15a (Gov^b)	74
	HPA-15b (Gov^a)	81
HPA-16 (Duv)	HPA-16bw (Duv^a)	< 1
	Va^a	< 0,4
	PI^T	> 99,9
	Vis	–
	Pe^a	–
	Dy^a	–
	Mou^a	26

*En la población caucásica.

sa influencia sobre los rendimientos de las transfusiones de plaquetas, actualmente se le otorga mayor importancia.

La trascendencia de estos conflictos inmunológicos radica en la rapidez y la intensidad con que afectan el rendimiento de las transfusiones, en la frecuencia de su presentación y en la dificultad para evitar su aparición o soslayar sus efectos. El tratamiento de los pacientes aloinmunizados sigue constituyendo hasta hoy uno de los desafíos más importantes relacionados con la transfusión de plaquetas. La introducción de los separadores celulares, que permiten obtener a partir de un donante único histocompatible una cantidad de plaquetas suficiente para una transfusión eficaz, significó un gran avance en el tratamiento de los episodios hemorrágicos en los pacientes refractarios. Lamentablemente, la mayor parte de las veces estos pacientes presentan anticuerpos con una marcada pluriespecificidad, lo que obliga a seleccionar donantes que posean una estrecha identidad antigénica con el paciente. El extremo polimorfismo del sistema HLA y las desfavorables frecuencias fenotípicas de los antígenos plaquetarios más inmunógenos hacen que siempre sea difícil, y a menudo imposible, el hallazgo de estos donantes. Por otra parte, las dificultades técnicas y organizativas de los estudios de compatibilidad y de las donaciones por aféresis limitan su aplicación en situaciones de emergencia. Por esta razón, se han ensayado diversos procedimientos terapéuticos con la finalidad de mejorar el rendimiento de las transfusiones de plaquetas en individuos aloinmunizados (inmunoglobulina intravenosa en dosis altas, inmunoglobulina anti-D en receptores Rh-positivos, esplenectomía, recambios plasmáticos, corticoides en dosis altas, transfusión de grandes cantidades de plaquetas en dosis repetidas a intervalos cortos, transfusión de plaquetas tratadas con pH ácido para eluir los antígenos HLA), pero hasta hoy no ha sido posible demostrar con claridad la eficacia de ninguno de ellos.

TROMBOCITOPENIA NEONATAL ALOINMUNE

Se trata de un proceso análogo a la EHRN, debido a que la madre desarrolla aloanticuerpos activos contra antígenos presentes en las plaquetas del feto, que atraviesan la placenta y son capaces de provocar una plaquetopenia transitoria en el recién nacido. Su incidencia se ha estimado en un caso por cada 2.000-4.000 nacimientos. El fenómeno puede observarse ya en el primer embarazo. Clínicamente se manifiesta por un cuadro hemorrágico de intensidad variable que puede ir desde una simple púrpura cutánea de tipo petequial que se desarrolla minutos u horas después del nacimiento, hasta una hemorragia letal en el SNC. En la inmensa mayoría de los casos, el antígeno responsable del conflicto inmunológico fetomaterno es el PI^{A1}. El tratamiento consiste en la transfusión de plaquetas compatibles que, ocasionalmente

pueden ser plaquetas extraídas de la madre y desplasmatizadas antes de ser transfundidas, para evitar un aporte adicional del anticuerpo responsable. Una terapéutica alternativa consiste en la administración de inmunoglobulina intravenosa en dosis altas, pero la eficacia de este tratamiento continúa siendo objeto de debate.

Púrpura postransfusional

Este trastorno se caracteriza por la aparición de una trombocitopenia megacariocítica, por lo general intensa, aproximadamente una semana después de una transfusión. Casi todos los casos descritos se observaron en mujeres HPA-1a-negativas (PI^{A1}-negativas) que presentaban anticuerpos con especificidad anti-PI^{A1} en su plasma durante el período de trombocitopenia. De los pocos centenares de casos referidos hasta hoy en la literatura, menos del 5% se produjeron en varones. En la mayoría de los casos la aloinmunización parece haber sido provocada por transfusiones o embarazos previos, y una nueva exposición a plaquetas incompatibles origina una respuesta inmunológica de gran intensidad. El anticuerpo destruye las plaquetas PI^{A1}-positivas aportadas por la transfusión que desencadena el proceso, y también las plaquetas PI^{A1}-negativas del receptor, aparentemente por un mecanismo inespecífico, en el que estas últimas participan sólo como *espectadores inocentes*.

Las transfusiones de plaquetas resultan totalmente ineficaces en este trastorno, y el empleo de corticosteroides no parece estar justificado. La administración de inmunoglobulina intravenosa en dosis altas se considera actualmente como el tratamiento de primera elección, y el recambio plasmático también podría ser un recurso terapéutico eficaz.

Trombocitopenias autoinmunes

Dentro de este concepto se incluyen diversos procesos que tienen en común cursar con trombocitopenia y presentar megacariocitos normales o aumentados en la médula ósea. En la gran mayoría de los casos puede demostrarse la presencia de autoanticuerpos antiplaquetarios mediante el empleo de técnicas serológicas adecuadas.

El diagnóstico diferencial se plantea especialmente con procesos que cursan con y que van acompañados de hallazgos serológicos similares, como la púrpura postransfusional, las trombocitopenias inmunes inducidas por fármacos y la seudotrombocitopenia por anticuerpos dirigidos contra criptoantígenos plaquetarios EDTA-dependientes (v. Capítulo 34).

TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA

Los continuos progresos en los procedimientos de obtención y conservación de los diferentes componentes sanguíneos han permitido su utilización terapéutica, lo que ha conducido a que la administración separada de las distintas fracciones hemáticas sea la característica principal de la hemoterapia moderna. En la mayoría de las situaciones clínicas solamente es necesario compensar el déficit de alguno de los elementos sanguíneos, y el objetivo terapéutico se cumple adecuadamente administrando tal componente deficitario de manera aislada. El empleo de componentes sanguíneos aislados no responde, exclusivamente, a la aplicación del concepto básico, y siempre válido, de que en terapéutica es mejor evitar administrar lo que no es necesario sino que, en muchas ocasiones, resulta la única conducta posible. Un ejemplo es el de la reposición de los pacientes trombocitopénicos, en quienes es indispensable aportar las plaquetas correspondientes a unos 4.000 mL de sangre para conseguir el efecto deseado, lo que obliga a concentrar estas células, puesto que no es posible transfundir tanto volumen de sangre total. Asimismo, es evidente la inutilidad e inconvenientes de aportar componentes de la sangre que no son necesarios. Así, por ejemplo, en pacientes con anemia normovolémica, los leucocitos y las plaquetas presentes en la sangre total pueden provocar sensibilizaciones que tengan consecuencias en ulteriores transfusiones, y el plasma puede condicionar una sobrecarga circulatoria.

La obtención de componentes de la sangre puede realizarse por fraccionamiento de las unidades de sangre total, utilizando procedimientos de centrifugación, o mediante la utilización de procedimientos de aféresis basados en el empleo de separadores celulares mecanizados. Estos separadores son sistemas de circulación extracorpórea que permiten procesar grandes volúmenes de sangre de un solo donante para aislar y recoger cualquiera de sus distintos componentes mientras se devuelven los que no son necesarios. Estos aparatos pueden utilizarse también con finalidad terapéutica, para conseguir una reducción rápida de elementos plasmáticos o celulares causantes de algunas enfermedades o de algunos de sus síntomas.

Transfusión de hematíes[1,9-10]

La eficacia de una transfusión de hematíes está en función de que los hematíes transfundidos sobrevivan en la circulación del paciente y sean capaces de realizar adecuadamente sus funciones propias de transporte e intercambio gaseoso.

Dos fosfatos orgánicos desempeñan un papel fundamental en el metabolismo del hematíe: adenosintrifosfato (ATP) y 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG). La viabilidad y la capacidad de transporte de oxígeno del hematíe después de la transfusión dependen del mantenimiento de niveles adecuados de estos dos fosfatos en el hematíe durante la conservación. Una disminución del ATP produce una alteración de la membrana eritrocitaria y una mayor rigidez del hematíe, lo que comporta, en último término, una pérdida de viabilidad.

El 2,3-DPG desempeña un papel importante en el transporte de oxígeno por la hemoglobina. Un descenso de los niveles del 2,3-DPG eritrocitario supone una mayor afinidad del oxígeno por la hemoglobina, lo que implica una mayor dificultad para liberarlo en los tejidos. Se ha comprobado que el contenido de este fosfato orgánico desciende progresivamente durante la conservación de la sangre. Después de 8 días se encuentra en el 50-70% de los valores iniciales, y después de 15 días puede llegar a descender al 15%. Cabe señalar que los hematíes son capaces de regenerar niveles aceptables de 2,3-DPG algunas horas después de haber sido transfundidos, recuperando así su funcionalismo. No obstante, el descenso transitorio de la capacidad de cesión de oxígeno a los tejidos puede resultar clínicamente significativa en algunas circunstancias, como la transfusión masiva o la exsanguinotransfusión.

Soluciones conservadoras

Los hematíes se mantienen habitualmente a 4 °C en la cámara frigorífica, en soluciones conservadoras cuyos componentes fundamentales son citrato sódico y glucosa. El citrato es

un quelante del calcio que impide el desarrollo del proceso de coagulación, y la glucosa es un sustrato esencial para el metabolismo energético eritrocitario. Existen diferentes tipos de soluciones conservadoras. Las soluciones de citrato-fosfato-dextrosa (CPD) contribuyen a retrasar el descenso de 2,3-DPG porque elevan el pH de la sangre hasta 7,7. La adición de purinas (adenina) a las soluciones conservadoras proporciona un sustrato que contribuye a mantener niveles aceptables de ATP. En los últimos años se han introducido nuevas soluciones de conservación de los hematíes: en unas se ha incrementado la cantidad de glucosa (CPDA-1, CPDA-2), en otras se añaden a los concentrados de hematíes soluciones diluyentes que contienen manitol como protector de la membrana eritrocitaria (SAG-M), y en otras se ha aumentado la dosis de adenina (ADSOL). Algunas de estas soluciones conservan la viabilidad de los hematíes hasta 40 a 45 días. Desde el punto de vista de la viabilidad, se considera aceptable una transfusión de hematíes cuando a las 24 horas sobreviven en la circulación del receptor más del 70% de los hematíes transfundidos.

Los hematíes pueden conservarse también a temperaturas inferiores a –80 °C por tiempo casi indefinido. El empleo de glicerol como agente crioprotector permite conseguir hematíes viables y con buen funcionalismo, después de un proceso de descongelación y lavado para retirar los restos de glicerol. Esta descongelación y lavado elimina también casi todo el plasma y los restos de leucocitos y plaquetas.

Indicaciones

Es difícil afirmar a partir de qué nivel de hemoglobina es necesaria una transfusión de hematíes. Existen otros parámetros, además de la hemoglobina, que desempeñan un papel importante en la oxigenación de los tejidos, tales como la circulación local, el gasto cardíaco, el índice de saturación de oxígeno y el tipo de curva de disociación del oxígeno y de la hemoglobina. La capacidad de adaptación es muy variable de unos sujetos a otros. Influyen en ella la edad y la coexistencia de otros trastornos. Desde hace tiempo se sabe que las anemias juveniles desarrolladas lentamente son bien toleradas, mientras que los ancianos acusan concentraciones de hemoglobina incluso moderadamente bajas.

La administración de hematíes debe ser más bien restrictiva, y está indicada exclusivamente en los casos en que aparezca o se prevea sintomatología por anoxemia. La transfusión de hematíes no es aconsejable en anemias sin acusada sintomatología, que pueden responder a tratamientos farmacológicos. Asimismo, no debe prodigarse en las anemias arregenerativas, ya que su repetición conduce a una sobrecarga de hierro (hemosiderosis).

Sangre total

Una unidad de sangre total contiene unos 450 mL de sangre y 63 mL de anticoagulante, con un hematocrito del 36-44%. Puede conservarse a 4 °C durante un período máximo que depende del anticoagulante empleado. Durante su conservación la sangre total sufre diversas alteraciones de interés transfusional, que se detallan en la tabla 40.12. A las 24 horas de conservación ya no existen granulocitos o plaquetas funcionalmente viables. Los factores plasmáticos de la coagulación y sus inhibidores fisiológicos, como la antitrombina III, se mantienen en sus valores normales durante todo el período de conservación, excepto los factores lábiles (V y VIII), que disminuyen al 25-30% de su actividad original.

TABLA 40.12

Características de la sangre almacenada a 4 °C en CPDA-1

	Días de conservación				
	0	7	14	21	35
Hematíes viables (%)	100	–	–	–	79
2,3-DPG (% valor inicial)	100	60	30	< 10	< 10
K^+ en plasma (mEq/L)	3,3	12,3	17,6	21,7	17,2
Na^+ en plasma (mEq/L)	169	162	159	157	153
Cl^- en plasma (mEq/L)	84	81	79	77	79
Lactato (mg/dL)	19	62	91	130	202
pH (a 37 °C)	7,2	6,9	6,9	6,8	6,7
Glucosa en plasma (mg/dL)	432	374	357	324	282
Fibrinógeno en plasma (% valor inicial)	100	100	100	100	100
Factor V en plasma (%)	100	100	85	80	45
Factor VIII en plasma (%)	100	60	45	40	35

Durante la última década, con la generalización del fraccionamiento sanguíneo y de la hemoterapia por componentes, la disponibilidad de sangre total por parte de los bancos de sangre ha disminuido considerablemente.

La sangre total está indicada en el tratamiento de la anemia hemorrágica aguda, en el que se necesita tanto aumentar la capacidad de transporte de oxígeno como expandir la volemia. Ambos cometidos, no obstante, pueden conseguirse también con la transfusión de concentrados de hematíes y expansores del plasma. En la transfusión masiva, el empleo de sangre total evita la disminución dilucional de los factores estables de la coagulación, con lo que se reduce la necesidad de transfundir plasma fresco, que sólo se requerirá para reponer factores lábiles.

La sangre total no es adecuada como fuente de granulocitos o de plaquetas, y para reponer factores de la coagulación es más apropiado emplear plasma congelado en fresco.

En un paciente adulto, cada unidad de sangre total aumenta la hemoglobina en 1 g/dL y el hematocrito en un 3%. En pacientes pediátricos, este incremento se logra transfundiendo 8 mL/kg de peso.

Concentrados de hematíes

Se obtienen eliminando unos 250 mL de plasma de las unidades de sangre total, mediante procedimientos de centrifugación. La utilización de bolsas de plástico facilita las manipulaciones y preserva la esterilidad. El período máximo de conservación, el volumen y el hematocrito de los concentrados de hematíes dependen de la solución conservadora empleada. Los concentrados de hematíes no aportan cantidades significativas de ningún factor de la coagulación y no poseen granulocitos ni plaquetas viables.

Los concentrados de hematíes están indicados en la corrección de las anemias normovolémicas. Los incrementos de hemoglobina y hematocrito que se obtienen con la transfusión de un concentrado de hematíes son similares a los que se logran con una unidad de sangre total.

Concentrados de hematíes lavados

Ciertas situaciones clínicas exigen que los hematíes se transfundan exentos de plasma. Tal es el caso de las reacciones transfusionales anafilácticas por isoinmunización frente a proteínas plasmáticas. La eliminación completa del plasma se logra mediante lavado de un concentrado de hematíes, o de una unidad de sangre total, con solución salina fisiológica estéril. Este procedimiento elimina también la mayor parte de los leucocitos y las plaquetas.

Concentrados de hematíes congelados-descongelados

Ya se ha mencionado que otra forma de conservación de los hematíes es la congelación. La única indicación actual de este procedimiento es la conservación de unidades de fenotipo muy infrecuente, o de unidades destinadas a la autotransfusión de individuos con aloinmunizaciones complejas o con anticuerpos reactivos contra antígenos de alta frecuencia.

Hematíes desleucocitados

Las unidades de sangre total o concentrado de hematíes contienen 1-3 $\times$ 10^9 leucocitos que, si bien no son funcionalmente viables, poseen la capacidad de desencadenar fenómenos de aloinmunización y reacciones febriles no hemolíticas. Se consideran desleucocitadas las unidades de sangre total o de concentrado de hematíes que han sido sometidas a un procedimiento capaz de reducir el contenido de leucocitos por debajo de 1 $\times$ 10^6/unidad. Para conseguir este objetivo pueden emplearse filtros de leucoadhesión de muy elevada eficacia, que no imponen retrasos a la transfusión, ya que pueden ser utilizados en la cabecera del enfermo. No obstante, en la práctica actual la mayoría de los países desarrollados han implantado la desleucocitación de los componentes sanguíneos en el momento de su obtención. Las ventajas de este criterio consisten en que: *a*) de esta forma se logra disminuir las cantidad de citocinas liberadas por los leucocitos durante el período de almacenamiento, que son responsables de muchas reacciones transfusionales, y *b*) los leucocitos se eliminan antes de que se produzcan alteraciones de su estructura, situación que limita o impide la eliminación ulterior de dichas células o de sus residuos.

Los filtros de leucoadhesión eliminan más del 99% de los leucocitos cuando se aplican a unidades de sangre extraídas recientemente, pero encarecen considerablemente el coste de la transfusión.

Los principales objetivos que justifican la desleucocitación de los hematíes son: *a*) prevenir las reacciones transfusionales febriles no hemolíticas; *b*) disminuir el riesgo de transmisión transfusional de agentes infecciosos transportados por los leucocitos (citomegalovirus, HTLV-I/II, virus de Epstein-Barr, priones, etc.); *c*) prevenir o retrasar el desarrollo de aloinmunización contra antígenos leucocitarios, y *d*) evitar o atenuar los posibles efectos inmunomoduladores de las transfusiones.

Transfusión de plaquetas

La indicación de la transfusión de plaquetas (tabla 40.13) puede tener una finalidad *terapéutica* (detener una hemorragia secundaria a trombocitopenia o trombocitopatía) o *profiláctica* (prevenir la aparición de hemorragias en pacientes con trombocitopenia extrema)[11]. No existen grandes discrepancias acerca de la indicación y de la eficacia del uso terapéutico de las transfusiones de plaquetas que, generalmente, se consideran justificadas independientemente de la causa de la trombocitopenia o de la trombocitopatía. El empleo profiláctico, en cambio, debe restringirse a los pacientes con trombocitopenias de causa central. El criterio profiláctico es inaplicable en las trombocitopenias de causa periférica (autoinmunes, hiperesplenismo, coagulación intravascular diseminada), en los pacientes que pueden permanecer trombocitopénicos de manera indefinida, o en los casos en los que la aparición de reacciones inmunes impide conseguir un incremento postransfusional adecuado del recuento periférico. La práctica más habitual ha consistido en mantener el recuento en cifras superiores a 20 $\times$ 10^9/L, un criterio basado en estudios que afirmaban que a partir de ese nivel desciende significativamente el riesgo de que se produzcan hemorragias espontáneas graves. Actualmente, muchos estudios demuestran que el nivel de seguridad se puede establecer en cifras más bajas, entre 5 y 10 $\times$ 10^9/L, si no existen factores adicionales de riesgo hemorrágico[12].

TABLA 40.13

Indicaciones de la transfusión de plaquetas

Terapéuticas
Detener hemorragias secundarias a trombocitopenia o trombocitopatías, independientemente de la causa de éstas
Profilácticas
Prevenir la aparición de hemorragias espontáneas en pacientes con trombocitopenia extrema
Restringida a pacientes con:
– Trombocitopenias centrales de duración limitada
– Rendimientos transfusionales adecuados

La evaluación de la eficacia de las transfusiones de plaquetas se puede realizar aplicando criterios clínicos o biológicos. La evaluación clínica resulta útil para analizar el resultado de las transfusiones terapéuticas, puesto que estima si el objetivo esencial (detener las hemorragias) se ha cumplido o no. El resultado de las transfusiones profilácticas se puede evaluar más objetivamente, mediante procedimientos biológicos que cuantifican su rendimiento, es decir, su capacidad para elevar el recuento periférico.

Las plaquetas pueden obtenerse por fraccionamiento de unidades de sangre total o mediante procedimientos de aféresis[13]. Con el primer método es necesario reunir en una mezcla las plaquetas de varios donantes, mientras que el segundo procedimiento permite obtener de un solo donante una cantidad de plaquetas suficiente para realizar una transfusión eficaz. Cuando se obtienen por fraccionamiento de unidades de sangre total, las plaquetas deben separarse en las 6 horas siguientes a la donación. Cada unidad debe contener un mínimo de 5,5 $\times$ 10^{10} plaquetas suspendidas en 50 mL de plasma. Generalmente, se conservan a 22 °C, en agitación continua, durante un período máximo de 5 días. La conservación a 4 °C mantiene una buena eficacia funcional de las plaquetas, pero reduce su supervivencia postransfusional.

La dosis habitual es de una unidad de plaquetas por cada 10 kg de peso del receptor. Esta dosis debe aumentarse en

pacientes con un consumo elevado, como ocurre en la sepsis, la coagulación intravascular diseminada o el hiperesplenismo. Una vez preparada la mezcla de plaquetas, ésta ha de transfundirse lo más pronto que sea posible, con el fin de disminuir el riesgo de contaminación bacteriana.

Los concentrados de donante único obtenidos por aféresis deben contener un mínimo de 3×10^{11} plaquetas, y deben transfundirse lo más pronto posible tras la extracción. Están especialmente indicados en pacientes con aloinmunización antileucoplaquetaria, cuando se dispone de donantes inmunológicamente compatibles. La obtención de este tipo de concentrados dura unas 3 horas, por lo que resultan poco apropiados para las transfusiones urgentes. No obstante, pueden ser muy útiles para el soporte profiláctico de los pacientes oncohematológicos.

Transfusión de granulocitos

La transfusión de granulocitos se empleó de manera habitual hasta hace algo más de una década para tratar las infecciones graves que acontecían en pacientes con granulocitopenia prolongada y que no respondían adecuadamente al tratamiento con antibióticos.

La eficacia clínica de las transfusiones de granulocitos es difícil de establecer, porque implica evaluar el beneficio que añaden a la terapéutica antibiótica junto a la cual se emplean, el cual resulta progresivamente menor a medida que se van introduciendo antibióticos más eficaces. Por otra parte, dicha eficacia está en relación con la cantidad de granulocitos transfundidos, y hasta hace pocos años sólo era posible obtener de un donante, previa estimulación con corticosteroides, $1\text{-}2 \times 10^{10}$ granulocitos/día, cifra que es aproximadamente la décima parte de la que un individuo normal produce cada día. Los pobres y dudosos resultados que se observaron en diversos estudios clínicos y la elevada incidencia de efectos adversos, tanto en los donantes como en los receptores, hicieron que el empleo de las transfusiones de granulocitos declinara rápidamente.

Aunque la disponibilidad de antibióticos más eficaces y el empleo de citocinas que aceleran la recuperación de recuentos granulocitarios adecuados en los pacientes sometidos a tratamientos mielosupresores han reducido el desarrollo de complicaciones infecciosas graves, éstas siguen observándose con una frecuencia no desdeñable.

La posibilidad actual de utilizar citocinas –especialmente el denominado *factor estimulante de colonias de granulocitos* (G-CSF)– como un medio para inducir la producción de una granulocitosis en donantes sanos, ha renovado en los últimos años el interés por esta terapéutica, particularmente para el tratamiento de las infecciones fúngicas invasivas. El empleo de G-CSF y corticosteroides permite obtener de un donante cantidades tres o cuatro veces mayores que las que se conseguían en el pasado. No obstante, es necesario señalar que no se ha establecido todavía cuál es la eficacia de la transfusión de estas dosis de granulocitos.

Los concentrados de granulocitos se obtienen mediante procedimientos de aféresis durante los cuales es necesario utilizar compuestos macromoleculares (hidroxietilalmidón, dextrano, gelatinas) que facilitan la separación de los granulocitos al aumentar la velocidad de sedimentación de los hematíes. Además de los efectos adversos inherentes a cualquier proceso de aféresis (reacciones vagales, hipocalcemia, citopenias, hemólisis), los donantes de granulocitos pueden presentar otros, inducidos por estos compuestos macromoleculares (reacciones anafilactoides, hipervolemia, edemas, hipertensión), y también por la administración de corticoides (hiperglucemia, hipertensión, agravamiento de afecciones previas latentes o manifiestas) y de G-CSF (dolores óseos, exacerbación de afecciones inflamatorias, etc.). Por este motivo, antes de volver a instaurar la transfusión de granulocitos como una práctica habitual, es necesario establecer mediante estudios bien diseñados la utilidad y las indicaciones precisas de las transfusiones de dosis altas de granulocitos en los pacientes granulocitopénicos con infecciones que no responden al tratamiento antibiótico.

Transfusión de linfocitos[14-15]

La transfusión de linfocitos se ha empleado con la finalidad de aportar inmunidad adoptiva frente a leucemias y algunos tipos de cáncer.

En enfermos leucémicos (especialmente en individuos afectados de leucemia mieloide crónica) en fase de recaída después de un trasplante de médula ósea, se han observado remisiones tras la infusión de linfocitos del mismo donante de médula. Este fenómeno, que se atribuye a las células T, y denominado *efecto del injerto contra la leucemia*, está estrechamente relacionado con el que determina el desarrollo de la denominada *enfermedad del injerto contra el huésped* (EICH) que se observa después del trasplante alogénico de precursores hematopoyéticos. Como consecuencia de estos resultados, se han desarrollado protocolos de transfusión de linfocitos en enfermos no trasplantados.

Por otra parte, mediante la transfusión de linfocitos estimulados en sistemas de cultivo *ex vivo* para conseguir actividad antitumoral (células *killer* activadas con linfocinas), se han obtenido respuestas favorables en algunos pacientes con cáncer (carcinoma de células renales y melanoma maligno).

Este tipo de inmunoterapia adoptiva podría aplicarse también en algunas enfermedades infecciosas. Clonas de linfocitos con actividad frente a un determinado virus podrían ser aisladas, y cultivadas para incrementar su número, con la finalidad de obtener un componente con actividad antiviral específica. Un procedimiento similar podría ser aplicado para tratar temporalmente algunas enfermedades autoinmunes.

Tratamiento con células progenitoras hematopoyéticas[16]

El tratamiento con progenitores hematopoyéticos tiene, habitualmente, el objetivo de permitir un tratamiento antineoplásico con dosis muy elevadas, que originaría mielodepresión prolongada o mielosupresión definitiva. Para conseguir la curación de ciertos tumores es necesario aplicar un tratamiento que causa mieloablación, y es necesario el trasplante de progenitores como una terapéutica complementaria de rescate para reponer la función hematopoyética eliminada por el tratamiento. En otros casos, el objetivo del trasplante es sustituir la hemopoyesis del paciente, por ser total o parcialmente defectuosa o insuficiente.

Este tipo de terapéutica se inició a principios de la década de 1970 con los primeros trasplantes alogénicos de médula ósea procedente de donantes emparentados compatibles.

Antes de la década de 1980 ya se había sugerido la posibilidad de tratar la médula ósea antes de su infusión para

disminuir los linfocitos T, con la finalidad de reducir o evitar la EICH.

A partir de entonces, se han introducido progresivamente distintos procedimientos de tratamiento con células progenitoras hematopoyéticas. En la segunda mitad de la década de 1980 se iniciaron los denominados *autotrasplantes* de progenitores hematopoyéticos, procedentes de la médula ósea del propio enfermo[17], propugnándose ya el tratamiento previo de la médula extraída, con el objetivo de eliminar la población blástica residual en la leucemia aguda.

En los últimos años, se ha generalizado el autotrasplante con progenitores hematopoyéticos de sangre periférica (PHSP), obtenidos mediante aféresis, después de movilizar las células progenitoras a la sangre periférica con quimioterapia, o con quimioterapia más factores de crecimiento (generalmente, G-CSF), procedimientos que consiguen aumentar hasta 60 veces los valores basales[18].

El autotrasplante de PHSP después de la quimioterapia intensiva reduce la duración de la neutropenia y de la trombocitopenia, y consigue la reconstitución hematopoyética en plazos significativamente más cortos que el autotrasplante de médula ósea. Se recomienda que las células precursoras del inóculo no sean inferiores a $2,5 \times 10^6$/kg de peso del receptor, aunque dosis menores pueden ser suficientes para conseguir un buen implante. En general, puede conseguirse de la sangre periférica un número mayor de progenitores que el que suele obtenerse mediante la aspiración medular. La recolección de PHSP puede hacer viable el trasplante en situaciones en las que es imposible obtener un número suficiente de progenitores de la médula ósea (mielofibrosis, irradiación pélvica). Los PHSP también tienen la ventaja de que su obtención no requiere utilizar anestesia, y que la recuperación de la hematopoyesis se produce en el receptor en un plazo más corto.

Los efectos adversos son los comunes a todos los procesos de aféresis y los ocasionados por el tratamiento de movilización, entre los que hay que considerar: dolores óseos (en el 70-80% de los casos) y cefaleas (en el 60-70% de los casos), astenia y fiebre, que suelen desaparecer en los cuatro días siguientes a la administración de G-CSF. La leucocitosis, en general, no alcanza cifras superiores a 50.000/µL, pero en ocasiones pueden llegar a elevarse a más de 80.000/µL. Cuando se requiere administrar G-CSF durante períodos prolongados o repetidos, pueden producirse exacerbaciones de lesiones inflamatorias, elevaciones de fosfatasa alcalina y LDH y citopenias[19].

Aunque las complicaciones parecen menores con la recolección de PHSP, la aspiración medular puede ser un recurso aplicable en individuos en los que no se obtienen resultados aceptables con protocolos de movilización bien conducidos, o en quienes resulta desaconsejable el empleo de citocinas (intolerancia, reacciones anafilácticas, antecedentes de enfermedad inflamatoria).

Desde hace algunos años han comenzado a realizarse trasplantes alogénicos de PHSP[20-21], lo que exige movilizar las células precursoras en donantes sanos mediante la administración de citocinas. En individuos normales tratados con 10 µg diarios de G-CSF por kg de peso, las células precursoras aumentan 10-70 veces en la sangre periférica a partir del cuarto día, lo que permite recoger en una sola sesión de aféresis un número suficiente de ellas para realizar un trasplante alogénico. Como sucede en el trasplante autólogo de PHSP, se ha observado que la recuperación de neutrófilos y de plaquetas en el receptor es considerablemente más rápida que con el trasplante medular alogénico. Se ha sugerido que otra ventaja de PHSP podría ser el mayor número de linfocitos T y de células *natural killer* contenidas en el inóculo, que podría resultar en un mayor efecto del injerto contra la leucemia. El empleo de PHSP se está incrementando rápidamente en los últimos años. En el trasplante alogénico con donantes no emparentados, los PHSP no se han introducido aún sistemáticamente debido a la posibilidad de que la administración de G-CSF produzca a largo plazo efectos adversos, todavía desconocidos. La inquietud acerca de estos efectos nace del conocimiento de que los factores de crecimiento estimulan la proliferación de las células y prolongan su supervivencia. Este último efecto es consecuencia de la inhibición de la muerte celular programada (apoptosis), alteración que constituye un importante mecanismo fisiopatológico de la oncogénesis. Los datos disponibles en la actualidad, obtenidos de voluntarios sanos que han recibido G-CSF, no demuestran alteración alguna. No obstante, es necesario esperar más tiempo para obtener una conclusión definitiva sobre la inocuidad de la administración de G-CSF a sujetos sanos, puesto que se ha estimado que, para comprobar un incremento de diez veces en el riesgo de contraer una leucemia, se deberían controlar más de 2.000 individuos durante 10 años o más[22].

En los últimos años ha aumentado considerablemente el interés por el trasplante de células progenitoras de sangre de cordón umbilical (SCU)[23-26]. La SCU contiene una cantidad de células progenitoras hematopoyéticas que resulta suficiente para el trasplante de niños con peso inferior a 40 kg. La limitación del número de donantes compatibles y el desarrollo de EICH que ocurren en el trasplante de progenitores alogénicos de médula ósea y sangre periférica podrían paliarse, en parte, con la aplicación de este recurso, puesto que, debido probablemente a la inmadurez inmunológica de las células de la SCU, es posible realizar trasplantes con menores exigencias de compatibilidad (se admite la incompatibilidad de uno o dos antígenos del sistema HLA).

Otras ventajas de los trasplantes de SCU son la disponibilidad inmediata de las unidades, almacenadas como producto congelado, y la absoluta ausencia de riesgos para el donante.

Uno de los principales problemas que se deben resolver es el desconocimiento del número de células progenitoras que es necesario para reconstituir el sistema hematopoyético de los enfermos. El trasplante de SCU es una opción que se debe tener en cuenta en el tratamiento de los enfermos candidatos a trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, pero la amplitud de su indicación todavía se desconoce.

El trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas se puede considerar de modo genérico como una forma de terapéutica génica en los trastornos de base hereditaria (hemoglobinopatías y defectos inmunológicos congénitos). No obstante, ya es una realidad una forma más específica de terapéutica génica que consiste en la inserción de una copia normal del gen defectivo en las propias células del enfermo. En general, las células utilizadas son linfocitos obtenidos por aféresis, en los que los genes se insertan mediante vectores retrovirales. Este tratamiento se ha empleado en enfermos con deficiencia de adenosín-desaminasa. Este nuevo componente proporciona un efecto temporal, mientras dura la vida de los linfocitos transfundidos capaces de producir la enzima.

Si la inserción de genes se realizara en células progenitoras hematopoyéticas, se podría solucionar definitivamente un trastorno hereditario. No obstante, en la experimentación animal ha resultado difícil obtener un porcentaje elevado de células transducidas y mantener estable la expresión de los genes en las células después de ser trasplantadas.

Un tratamiento génico potencial de los procesos malignos que está actualmente en desarrollo consiste en la inserción de genes de ciertas citocinas (factor de necrosis tumoral [TNF], IL-2, u otras) en células tumorales o en linfocitos específicos. De esta forma, se podrían depositar grandes cantidades de citocinas o de otros productos génicos con actividad antitumoral que tengan toxicidad *in vivo*, dentro del mismo tumor.

El tratamiento con células progenitoras hematopoyéticas y con linfocitos constituye una modalidad particular de medicina transfusional, que seguirá evolucionando en el curso de los próximos años.

Transfusión de plasma y sus fracciones

Plasma

A pesar de que en la actualidad se dispone de plasma obtenido o tratado en condiciones que reducen el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas, su uso no está exento de otros efectos adversos potenciales. Entre ellos, por su frecuencia y posible trascendencia, cabe destacar las reacciones alérgicas y la lesión pulmonar aguda asociada con la transfusión. Por ello, como en otros componentes sanguíneos, se debe restringir su uso a aquellas situaciones clínicas en las que no existan otras alternativas. Las indicaciones corrientemente aceptadas del plasma fresco congelado son las siguientes:

1. Situaciones de riesgo hemorrágico o presencia de hemorragias en pacientes con déficit congénitos de factores de la coagulación para los que no se dispone de concentrados específicos, o que no responden a tratamientos farmacológicos.
2. Situaciones urgentes de riesgo hemorrágico o presencia de hemorragias en pacientes con déficit adquiridos de factores de la coagulación (CID, sobredosis de anticoagulantes orales, hemodilución por transfusión masiva, insuficiencia hepática grave, etc.).
3. Como solución de reposición en recambios plasmáticos aplicados al tratamiento de la púrpura trombocitopénica trombótica o al síndrome urémico hemolítico[27].

Crioprecipitados

Los crioprecipitados se obtienen congelando plasma recién extraído (preferentemente, antes de transcurridas 6 horas desde la donación), y descongelándolo posteriormente a temperatura de 4-8 °C. La descongelación a baja temperatura provoca la aparición de un precipitado que contiene la mayoría del factor VIII, del factor Von Willebrand, del fibrinógeno, de la fibronectina y del factor XIII presentes en la unidad. Este precipitado se sedimenta mediante centrifugación, tras la cual se extrae el plasma sobrenadante dejando un pequeño volumen (unos 20 mL en total) para su ulterior resuspensión.

Los crioprecipitados pueden conservarse congelados, sin perder prácticamente actividad, durante 24 meses a la temperatura de –25 °C o inferior, y durante 3 meses a temperaturas entre –18 y –25 °C. Antes de su empleo, deben descongelarse a 37 °C y utilizarlos en una hora, sin volver a refrigerar ni congelar[28].

Actualmente, ha disminuido el uso de los crioprecipitados debido a la disponibilidad de concentrados de origen industrial, sometidos a procedimientos de inactivación viral, que poseen los diversos factores que contienen los crioprecipitados. No obstante, puesto que la disponibilidad de dichos preparados industriales todavía es escasa, en ocasiones no hay alternativas al empleo de crioprecipitados. Se han diseñado diversos algoritmos para calcular la dosis que se debe administrar en cada caso, asumiendo que cada unidad de crioprecipitado contiene 250 mg de fibrinógeno. En la práctica, puede estimarse que se requieren entre 1,5 y 2 unidades de crioprecipitado por cada 10 kg de peso del receptor para aumentar 1 g/L la concentración plasmática de fibrinógeno.

Efectos adversos de la transfusión sanguínea

Cualquier síntoma o signo físico, por banal que parezca, que se produzca durante un acto transfusional o después de él, debe considerarse como una alarma que puede ser el comienzo de un efecto adverso potencialmente grave e incluso fatal. Por esta razón, es necesario determinar, con la mayor rapidez posible, la causa de cualquier reacción transfusional, independientemente de su expresión clínica.

Frente a cualquier reacción transfusional deben adoptarse sin dilación las siguientes medidas: *a*) detener la transfusión; *b*) mantener la vía venosa e infundirse solución salina isotónica; *c*) comprobar los registros y la identificación del paciente para determinar si la unidad infundida era la prevista para él, y *d*) extraer muestras de sangre del paciente y enviarlas al banco de sangre junto con la unidad que provocó la reacción, para realizar recomprobaciones analíticas, que deberán incluir: grupo ABO del paciente y de la unidad de sangre, observar si existe hemoglobina libre en el plasma del paciente y realizar una prueba de antiglobulina directa (Coombs) en sus hematíes.

Los diferentes programas de hemovigilancia implantados en diversos países han permitido identificar cuáles son las complicaciones más frecuentes que presentan los receptores de una transfusión. Sorprendentemente, la mayor amenaza es el error transfusional, es decir, la administración de un componente erróneo que, en un grupo de pacientes, supone la transfusión de un concentrado de hematíes ABO incompatible con la morbilidad y mortalidad que ello representa[29-30].

En la tabla 40.14 se expone una clasificación de los efectos adversos de las transfusiones. A continuación, se revisan algunas de ellas.

Complicaciones agudas

Reacciones hemolíticas agudas

Generalmente, son motivadas por la administración de hematíes ABO-incompatibles. Los anticuerpos naturales anti-A y anti-B del plasma del receptor se unen a los antígenos correspondientes, activan la cascada del complemento y provocan la hemólisis intravascular de los hematíes transfundidos. Este proceso libera compuestos con potente acción vasodilatadora, y activa la generación de trombina, lo cual produce hipotensión arterial y coagulación intravascular diseminada. La isquemia renal condicionada por

TABLA 40.14

Principales efectos adversos de la transfusión

COMPLICACIONES AGUDAS	
De origen inmunológico	**De origen no inmunológico**
• Reacción hemofílica aguda • Reacción febril no hemolítica • Reacción alérgica • Lesión pulmonar aguda asociada a la transfusión • Destrucción de las plaquetas transfundidas por aloinmunización HLA o HPA	• Sepsis bacteriana • Sobrecarga circulatoria • Reacciones hipotensivas • Hemólisis no inmune
COMPLICACIONES RETARDADAS	
De origen inmunológico	**De origen no inmunológico**
• Reacción hemofílica retardada • Aloinmunización frente a antígenos eritrocitarios, plaquetarios, leucocitarios o proteínas plasmáticas • Enfermedad del injerto contra el huésped postransfusional • Inmunomodulación	• Transmisión de agentes infecciosos • Hemosiderosis postransfusional

el colapso circulatorio, el depósito de fibrina y de complejos inmunes en los glomérulos renales y la posible lesión inducida por la precipitación de hemoglobina a nivel tubular acaban produciendo, frecuentemente, una insuficiencia renal aguda. La incompatibilidad en otros grupos sanguíneos puede también dar lugar a reacciones hemolíticas agudas, pero pocas veces son tan graves como las originadas por el sistema ABO.

Los signos y síntomas fundamentales son fiebre, escalofríos, opresión retroesternal y dolor lumbar. Puede seguir un estado de colapso y coagulación intravascular diseminada susceptible de provocar manifestaciones hemorrágicas. Si el paciente está anestesiado, las manifestaciones pueden reducirse a una tendencia a las hemorragias en las heridas quirúrgicas, hipotensión y hemoglobinuria.

El tratamiento deberá ajustarse según la gravedad del cuadro, pero en líneas generales consiste en una combinación de: *a*) hiperhidratación: 3.000 mL/m^2 de superficie corporal cada 24 horas (suero salino fisiológico + suero glucosado al 5% en proporción 1:1); *b*) administración de bicarbonato sódico para mantener un pH urinario superior a 7,0, y prevenir así la precipitación de la hemoglobina en los túbulos renales; *c*) administración de agentes presores (p. ej., dopamina en dosis bajas, que tienen un efecto vasodilatador sobre el lecho renal), y *d*) tratamiento de las alteraciones de la coagulación que vayan acompañadas de hemorragias, mediante la infusión de plasma fresco y plaquetas. Deberá instituirse tratamiento con diálisis si se establece un cuadro de insuficiencia renal aguda con anuria que no responda al tratamiento conservador[31].

Reacciones febriles no hemolíticas

Las reacciones de escalofríos e hipertermia constituyen el efecto adverso más frecuente de la transfusión. Pueden ser debidas a la existencia de citocinas con efecto proinflamatorio en el producto transfundido (especialmente, en las transfusiones de plaquetas)[32], o bien a la sensibilización de los receptores frente a antígenos de los leucocitos o de las plaquetas. Los anticuerpos que desarrollan pueden provocar reacciones febriles y escalofríos cuando se transfunden componentes que contengan leucocitos o plaquetas, o hacer que resulte ineficaz la transfusión de estos elementos. La generalización de la leucorreducción de los componentes sanguíneos ha disminuido significativamente la aloinmunización contra antígenos de los hematíes y de las plaquetas y, en consecuencia, la aparición de este tipo de reacciones[30,33].

Reacciones alérgicas

Las reacciones alérgicas (urticaria, prurito, crisis asmáticas) ocupan, por frecuencia, el segundo lugar después de las de escalofríos e hipertermia. La intensidad de la reacción puede ser muy variable, desde la simple aparición de algún habón, hasta una auténtica reacción anafiláctica generalizada, con broncoespasmo y shock. El tratamiento, como siempre, habrá que adecuarlo a la gravedad de los síntomas: desde la administración de un antihistamínico por vía intravenosa hasta medidas de soporte cardiorrespiratorio. Se ha identificado a los déficit de IgA con anticuerpos anti-IgA y a los déficit de haptoglobina con anticuerpos anti-haptoglobina como causa de reacciones anafilácticas graves[34-35].

Lesión pulmonar aguda asociada con la transfusión

En los últimos años se ha identificado la lesión pulmonar aguda asociada con la transfusión (LPAT) como una de las primeras causas de morbilidad y mortalidad asociada con esta práctica. Esta complicación se debe a la presencia de anticuerpos en el donante, menos frecuentemente en el receptor, dirigidos contra antígenos presentes en los granulocitos, que provocan la activación de los leucocitos, su retención en el lecho vascular pulmonar y la liberación de sustancias vasoactivas. El resultado final es un aumento de la

permeabilidad de los capilares pulmonares y una acumulación de líquido en el espacio intersticial que, en los casos más graves, puede acabar provocando un edema pulmonar bilateral. Algunos sistemas de hemovigilancia indican que la LPAT es, actualmente, la primera causa de mortalidad asociada con la transfusión[36].

Sepsis bacteriana

Desgraciadamente, a diferencia de las complicaciones infecciosas virales, poco se ha progresado en las últimas décadas respecto al riesgo de las complicaciones infecciosas bacterianas de la transfusión de componentes sanguíneos. La prevalencia real del problema no se conoce con exactitud, ya que los estudios realizados con el fin de determinarla difieren en la metodología utilizada y en el período de conservación y el número de los componentes estudiados. No obstante, los estudios más recientes estiman que la contaminación bacteriana oscila entre el 0,002 y el 1% para los concentrados de hematíes, el 0,04 y el 10% para los concentrados de plaquetas, y es prácticamente inexistente en el caso de las unidades de plasma fresco y de crioprecipitado. La expresividad clínica de la complicación es muy variable, y depende de variables relacionadas tanto con el producto transfundido como con el receptor[37].

Reacciones hipotensivas

Se trata de un cuadro agudo de hipotensión sistólica y/o diastólica que acontece poco tiempo después del inicio de la transfusión. Suele ir acompañado de síntomas o signos respiratorios, y en un tercio de los pacientes se observan, además, manifestaciones alérgicas. Se ha relacionado esta reacción con la generación de citocinas durante el almacenamiento de componentes celulares, leucorreducidos o no, cuya transfusión afecta a pacientes con defectos en el catabolismo de las citocinas, especialmente si están en tratamiento con fármacos inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA)[38].

Complicaciones retardadas

Reacciones hemolíticas retardadas

En ocasiones, se desarrollan reacciones hemolíticas tardías después de transfundir hematíes aparentemente compatibles con el receptor. Generalmente, se trata de pacientes que habían sido aloinmunizados previamente por transfusión o embarazo. Con el paso del tiempo, algunos aloanticuerpos pueden disminuir su expresión llegando a volverse indetectables mediante las técnicas inmunohematológicas utilizadas habitualmente para realizar las pruebas de compatibilidad pretransfusional. Después de una nueva transfusión en la que se halle presente el mismo antígeno que previamente provocó la inmunización, se produce una respuesta secundaria que eleva con rapidez los niveles del anticuerpo antes de que desaparezcan de la circulación los hematíes transfundidos, a diferencia de lo que sucede habitualmente con los estímulos sensibilizantes primarios. Los signos más frecuentes son fiebre, una disminución de la hemoglobina del paciente de causa inexplicable y una ictericia leve. No es frecuente la aparición de problemas clínicamente significativos, y raramente resulta necesario aplicar un tratamiento específico para estas reacciones retardadas. Los antígenos que con mayor frecuencia desencadenan este tipo de reacciones son los de los sistemas Kidd, Duffy y Rh.

Enfermedad del injerto contra el huésped postransfusional

Se trata de una complicación casi siempre fatal, originada por la transfusión de linfocitos T viables a pacientes con una inmunodepresión intensa (trasplante de progenitores hematopoyéticos, transfusión intrauterina, enfermedad de Hodgkin, tratamiento con análogos de las purinas, etc.) o receptores inmunocompetentes que comparten algún haplotipo con el donante (familiares en primer o segundo grado, o pacientes transfundidos con productos HLA compatibles seleccionados). Los linfocitos transfundidos proliferan en estos pacientes, y atacan diversos órganos y tejidos del receptor. El cuadro clínico, que comienza poco tiempo después de la transfusión (entre 10 y 15 días), se caracteriza por fiebre, diarrea, erupción cutánea, alteraciones de la analítica hepática y pancitopenia. Los tratamientos ensayados se han mostrado ineficaces, por lo que la prevención de esta complicación es imprescindible en todos los pacientes susceptibles. Ésta se realiza mediante la transfusión de componentes celulares sometidos a irradiación gamma en dosis no inferiores a 25 Gy[39].

Transmisión de enfermedades infecciosas

Las enfermedades infecciosas más importantes transmisibles por transfusión se enumeran esquemáticamente en la tabla 40.15. A continuación, sólo se comentan someramente las más trascendentes.

TABLA 40.15

Enfermedades infecciosas transmisibles por transfusión

Por virus
- Hepatitis A, B, C, δ y G
- Sida
- HTLV-I/II
- Citomegalovirus (CMV)
- Virus de Epstein-Barr (VEB)
- Parvovirus
- Virus del Nilo Occidental

Por protozoarios
- Paludismo
- Babesiosis
- Enfermedad de Chagas

Por espiroquetas
- Sífilis

Por riquettsias
- Fiebre Q
- Fiebre de las Montañas Rocosas

Por bacterias
- Grampositivos: estreptococos, estafilococos, etc.
- Gramnegativos: *Escherichia coli, Yersinia, Pseudomonas*

Por priones
- Variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob

Infecciones virales

Gracias a la aplicación de métodos cada vez más sensibles y específicos en la selección y en el cribado analítico de los donantes, el riesgo de transmisión de agentes virales a través de la transfusión de componentes sanguíneos se ha reducido de forma significativa. Actualmente, el riesgo residual es tan pequeño que su cuantificación se basa en estimaciones. En España, dichas estimaciones sitúan el riesgo en 1 de cada 500.000 donaciones para el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), 1 de cada 150.000 donaciones para el virus de la hepatitis C (VHC) y 1 de cada 75.000 para la hepatitis B (VHB). En el caso de que se utilice la detección de ácidos nucleicos, las cifras pasan a ser de 1 en 1.030.000 donaciones para el VIH, 1 en 429.000 para el VHC y 1 en 128.000 para el VHB[40].

Existen otros virus potencialmente transmisibles a través de la transfusión, para los cuales en muchos países no se realizan pruebas de cribado de forma generalizada. Este es el caso para el citomegalovirus (CMV), el parvovirus B19 y el HTLV-I/II. El CMV es un virus de la familia herpes, ampliamente extendido entre la población, en la que alrededor del 80% de los adultos poseen anticuerpos reactivos contra el mismo. Mientras que en un huésped inmunocompetente las infecciones por CMV suelen pasar desapercibidas o expresarse en forma de un cuadro clínico similar al de la mononucleosis infecciosa, en los pacientes inmunodeprimidos puede tener consecuencias fatales. Por ello, en este grupo (fundamentalmente, en niños prematuros y en pacientes sometidos a trasplante de progenitores hematopoyéticos) deben tomarse medidas preventivas para evitar su transmisión. En general, la estrategia más empleada es la leucorreducción de los componentes sanguíneos celulares, pues se ha demostrado que ésta reduce significativamente la carga viral, aunque no la elimina por completo[41]. Aún es objeto de debate si la leucorreducción es igualmente eficaz para reducir la transmisión transfusional del CMV que la transfusión de componentes sanguíneos obtenidos de donantes con serología negativa para el CMV[42].

Otra estrategia para reducir el riesgo de transmisión de agentes infecciosos a través de los componentes sanguíneos lábiles consiste en la aplicación de tratamientos para la reducción de patógenos. En España, una Orden Ministerial del 2 de junio de 1998, estableció la obligatoriedad de aplicar medidas para aumentar la seguridad del plasma, y entre otras posibilidades menciona el tratamiento con azul de metileno. En la Unión Europea se ha autorizado la aplicación de un método basado en el empleo de una molécula de psoraleno (Intercept®) para la inactivación de patógenos en los concentrados de plaquetas. En estos momentos se está investigando la eficacia de este método para el tratamiento del plasma. Asimismo, se encuentran en fase de desarrollo un método que utiliza la vitamina B_2 (riboflavina, Mirasol®), y otro que sería aplicable a los concentrados de hematíes (Inactine®)[43-45].

Recientemente, otros patógenos se han añadido a la lista de los que son potencialmente transmisibles a través de la transfusión: el virus del Nilo Occidental[46] y el prión responsable de la variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob[47,48].

Hemosiderosis postransfusional

La transfusión de una unidad de hematíes aporta aproximadamente 250 mg de hierro. En los pacientes que se transfunden crónicamente el hierro se acumula progresivamente en las células del organismo, predominantemente en las del sistema mononuclear fagocítico del bazo y del hígado, lo que puede provocar el desarrollo de una hemosiderosis. La hemosiderosis de causa transfusional puede comprometer la función del hígado, del corazón o de las glándulas endocrinas. Este riesgo debe hacer reflexionar acerca de la importancia de restringir todo lo posible la transfusión de hematíes en las anemias crónicas no ferropénicas. Una vez establecida, la hemosiderosis puede tratarse mediante el empleo de desferroxiamina, un agente quelante del hierro, en infusión subcutánea. Las hemosiderosis presentes en pacientes que han dejado de requerir transfusiones de hematíes pueden ser tratadas mediante sangrías terapéuticas.

Hemoderivados

A partir del plasma, mediante procesos que se realizan de modo industrial, es posible separar diversos componentes para su uso terapéutico: albúmina, inmunoglobulinas y los diferentes factores de la coagulación.

Debido a que el producto de partida está formado por el plasma obtenido de miles de donantes, la contaminación de un lote puede provocar la transmisión de la infección a un número muy amplio de pacientes, como pudo comprobarse con el VIH cuando, en EE.UU., hasta el 46% de hemofílicos resultaron infectados[49]. Aunque el procedimiento de purificación del producto, en ocasiones, hace que la potencial contaminación viral sea mínima (p. ej., en el caso de la albúmina o de los concentrados de factores de la coagulación purificados mediante cromatografía de inmunoafinidad), desde la década de 1980 se están utilizando procedimientos de inactivación viral para reducir al mínimo el riesgo de transmisión de enfermedades virales. Los procedimientos utilizados son la pasteurización, el solvente detergente, o el calor-presión[50].

Sin embargo, debido a la potencial existencia de agentes patógenos transmisibles que no son sensibles a los procedimientos de inactivación, como es el caso de los priones, la tendencia actual es la de utilizar, siempre que sea posible, hemoderivados obtenidos mediante ingeniería genética.

Albúmina

Se obtiene a partir del fraccionamiento del plasma mediante el método de Cohn (fracción V). Se presenta en solución que contiene el 5 o el 20% de albúmina. Durante su preparación industrial, las soluciones de albúmina son sometidas a pasteurización (60 °C durante 10 horas), con la finalidad de prevenir la transmisión de enfermedades virales. En estado líquido, la albúmina se puede conservar hasta 10 años a 4 °C.

La transfusión de albúmina tiene como principales indicaciones:

1. El tratamiento del shock hipovolémico, especialmente en los quemados, como sustituto del plasma, debido a su importante poder oncótico. Sin embargo, un estudio reciente realizado en pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos no encontró diferencias en la mortalidad cuando se comparó la albúmina con la solución salina al 0,9% como soluciones de reposición volémica[51]. Según este estudio, por lo menos en un determinado grupo de pacientes, se podrían sustituir las soluciones de albúmina por una más barata y que no es de origen humano.

2. Estados de hipoalbuminemia crónica en los que existe un déficit de síntesis de albúmina, por afectación hepática grave o por una eliminación excesiva por vía enteral o urinaria.
3. La ictericia del recién nacido, para mantener niveles óptimos de albúmina en el plasma, con la finalidad de disminuir la tasa de bilirrubina disociada de la albúmina, que es la que afecta al SNC.
4. Como solución de reposición en los recambios plasmáticos.

Inmunoglobulinas inespecíficas por vía intravenosa

Las inmunoglobulinas (IgG) también se obtienen a partir del plasma, mediante el método de Cohn. Sin embargo, para que sea apropiado para su administración intravenosa, es necesario someter el producto a otros procedimientos adicionales (precipitación mediante tratamiento con pH ácido, estabilización con albúmina o tratamiento con polietilenglicol) para eliminar agregados de IgG que se pueden formar durante la separación.

Los efectos terapéuticos de las inmunoglobulinas se deben a acción sustitutiva y/o inmunomodulación. La acción sustitutiva hace referencia a la reposición en pacientes con déficit cuantitativo, para restablecer el mecanismo antiinfeccioso, que incluye: actividad bactericida por activación del complemento, potenciación de mecanismos de aclaramiento microbiano, opsonización de bacterias, aumento de la inmunidad celular frente a virus y neutralización de endotoxinas. La acción inmunomoduladora comprende el bloqueo de receptores Fc de los fagocitos, el aumento de células T supresoras, la precipitación de inmunocomplejos, la supresión de la síntesis de anticuerpos y el aumento de su aclaramiento y, posiblemente, la intervención de anticuerpos antiidiotipo presentes en la mezcla de plasmas de la que se obtienen las inmunoglobulinas[52-53].

En concordancia con estos efectos, pueden considerarse las siguientes indicaciones de las inmunoglobulinas.

Inmunodeficiencia primaria

Aunque resulta difícil establecer la dosis óptima, la dosificación mínima parece ser de 150 mg/kg por semana, cada 4 semanas.

Inmunodeficiencia adquirida

En los neonatos, y especialmente en los prematuros, existe un riesgo aumentado de infección debido a la inmadurez del sistema inmunitario. Se ha demostrado la utilidad de la administración de inmunoglobulinas intravenosas en la profilaxis de las infecciones perinatales. En algunos estudios se ha comprobado también que potencian la eficacia de los antibióticos en las infecciones neonatales. No está probada la capacidad de aumentar la protección del neonato mediante el paso transplacentario de inmunoglobulinas intravenosas administradas a la madre.

En los grandes quemados, en los que predominan las infecciones bacterianas favorecidas por la disminución del nivel de las inmunoglobulinas debido al aumento del catabolismo y a fenómenos de distribución, los datos de que se dispone no demuestran su eficacia.

En la leucemia linfática crónica y en el mieloma múltiple, la hipogammaglobulinemia que se produce con frecuencia condiciona la inmunodeficiencia y la incidencia de infecciones repetidas. En la leucemia linfática crónica, la profilaxis con inmunoglobulinas intravenosas ha mostrado una reducción del 50% de las infecciones clasificadas como moderadas (que requieren únicamente antibioticoterapia oral). En el mieloma múltiple se observa el mismo descenso de complicaciones infecciosas en los grupos tratados en fase I y II. Sin embargo, todavía no está establecida en ambas enfermedades la indicación terapéutica exacta y la eficacia profiláctica, comparada con el uso de antibióticos.

En el trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) se produce una intensa inmunodeficiencia debido a la quimioterapia supraletal, la cual favorece la presencia de infecciones oportunistas. Adicionalmente, la existencia de la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH) retrasa la reconstrucción de la inmunidad en el enfermo trasplantado. La administración de inmunoglobulinas intravenosas tras el TPH tiene dos utilidades potenciales: la actividad antiinfecciosa y el efecto inmunomodulador, que puede modificar o evitar la EICH. Sin embargo, tres estudios aleatorizados no han encontrado ningún beneficio en cuanto a reducir la incidencia de infecciones bacterianas o por CMV, la enfermedad del injerto contra el huésped o la mortalidad relacionada con el trasplante[54-56].

Los pacientes con sida, con frecuencia, son incapaces de responder adecuadamente ante estímulos inmunizantes, debido al efecto supresor de la enfermedad sobre la actividad de las células B. La capacidad de las células B de memoria, probablemente, no está suprimida, y su disfunción está más relacionada con la disminución de las células colaboradoras. Esto explicaría el mayor defecto de fracción B en los niños con la enfermedad heredada que en los adultos, y la alta frecuencia de infecciones bacterianas. Por ello, los estudios con inmunoglobulinas intravenosas se han iniciado en la población pediátrica, existiendo todavía escasos estudios controlados para establecer su valor en el sida infantil.

Enfermedades autoinmunes

El efecto del tratamiento intravenoso con inmunoglobulinas en estos procesos se debería a inmunomodulación, aunque los mecanismos de acción no están todavía completamente aclarados.

Existe experiencia clínica suficiente en la púrpura trombocitopénica inmune. Numerosos estudios han demostrado que su administración en dosis de 400 mg/kg/día durante 5 días, o bien 1 g/kg/día durante 2 días, induce un incremento significativo del recuento de plaquetas, de una duración de 2 a 10 días, en el 50-70% de los enfermos. También se ha observado que si en estos pacientes se transfunden plaquetas tras administrar inmunoglobulinas se obtienen elevaciones del recuento plaquetario que se mantienen durante varios días.

La enfermedad de Kawasaki se caracteriza en su fase aguda por un déficit de células T supresoras y una intensa activación de células T, células B y monocitos, y durante esta etapa suele observarse un aumento de la secreción de citocinas por estas células, existiendo la evidencia de que esta activación inmune contribuye a la lesión endotelial. El tratamiento con inmunoglobulinas intravenosas en dosis elevadas, asociado o no con ácido acetilsalicílico, reduce la frecuencia de las alteraciones coronarias, de forma que está considerado el tratamiento estándar de la fase aguda de la enfermedad.

Refractariedad a las transfusiones de plaquetas

Basándose en los resultados obtenidos en las trombocitopenias autoinmunes, se han empleado las inmunoglobulinas

por vía intravenosa en dosis altas para intentar resolver el problema de la refractariedad a las transfusiones de plaquetas en los pacientes con trombocitopenias centrales (por déficit de producción medular). En muchas ocasiones, la refractariedad es una consecuencia de la aloinmunización del paciente contra antígenos presentes en las plaquetas transfundidas. Las inmunoglobulinas en altas dosis por vía intravenosa se ensayaron con la finalidad de mejorar la respuesta a las transfusiones de plaquetas incompatibles, especialmente en pacientes con episodios hemorrágicos graves. Las escasas experiencias relatadas en la literatura son contradictorias, y los resultados no han sido muy alentadores.

Concentrados de factores de la coagulación

Actualmente, el tratamiento de defectos congénitos de los factores de coagulación se basa en la administración de concentrados de factores producidos ya sea a partir de plasma humano y sometidos a diferentes procesos de inactivación viral, o bien mediante tecnología recombinante. La tendencia está en utilizar solamente productos obtenidos mediante recombinación genética.

Existen preparados comerciales obtenidos a partir del plasma, de factor VIII, factor VIII-Von Willebrand, factor IX, factor VII, factor XI, antitrombina, proteína C, plasminógeno, α_1-antitripsina y fibrinógeno. Asimismo, se encuentran disponibles concentrados que contienen mezclas de factores II, VII, IX y X (son los llamados concentrados de complejo protrombínico), tanto activados como no activados. Algunos de ellos no están registrados en España.

Actualmente, existen concentrados de factor VIII y de factor IX de origen recombinante, y su perfil de eficacia y seguridad son similares a los concentrados derivados del plasma, aunque inicialmente existieron sospechas de que su uso pudiera promover con mayor frecuencia la aparición de inhibidores entre los pacientes que los recibían[57].

Alternativas farmacológicas a la transfusión de componentes sanguíneos

Una población de donantes cada vez más reducida debido a unos criterios de selección cada vez más exigentes, una población cada vez más envejecida y con unas necesidades transfusionales mayores, y los omnipresentes riesgos potenciales de la transfusión de componentes sanguíneos, incita a la búsqueda de alternativas a la transfusión. La estrategia que orienta esa búsqueda consiste, por un lado, en el desarrollo y el empleo de fármacos que aumenten la producción de hematíes y, por otro, en utilizar fármacos que minimicen las pérdidas por hemorragia, tanto espontáneas como secundarias a procedimientos quirúrgicos.

Eritropoyetina (EPO)

La EPO es una proteína de 16 aminoácidos que controla la eritropoyesis, estimulando la supervivencia, la proliferación y la diferenciación de los progenitores eritroides. Se produce fundamentalmente en las células del intersticio peritubular en el riñón y, en menor cantidad, en el hígado. Las células peritubulares del riñón son sensibles a la hipoxia y ella estimula las células productoras de EPO a aumentar la síntesis, lo que produce una elevación de los niveles circulantes de esta citocina, la cual, a su vez, induce la aparición de reticulocitosis y un aumento de la masa de hematíes circulante. El producto se obtiene mediante ingeniería genética, y existen dos formas de la molécula: alfa (la más utilizada) y beta. Recientemente, se ha introducido en el mercado una forma pegilada de la EPO que tiene una vida media más larga y permite espaciar su administración (darbepoetina).

Se ha analizado el papel de la EPO en la reducción de la transfusión de concentrados de hematíes en diversas situaciones clínicas. En un estudio realizado con enfermos graves ingresados en unidades de cuidados intensivos, la administración de 300 UI/kg de EPO redujo en un 18% el porcentaje de pacientes transfundidos y el número de unidades transfundidas, y aumentó el hematocrito final un 4% en el grupo tratado con respecto al grupo que recibió un placebo, si bien no hubo diferencias significativas en la mortalidad[58]. Estos hallazgos apoyan los resultados obtenidos en un estudio anterior, donde pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos recibieron concentrados de hematíes empleando en unos casos una política restrictiva (mantener la hemoglobina entre 7 y 9 g/dL) y en otros una liberal (hemoglobina entre 10 y 12 g/dL); no se encontraron diferencias entre los dos grupos en lo que respecta a la mortalidad[59].

En individuos afectados de neoplasias, diversos estudios han demostrado que la administración de EPO a los pacientes anémicos aumenta significativamente los niveles de hemoglobina, reduce los requerimientos transfusionales y mejora la calidad de vida, especialmente por la mejora de la astenia[60].

En pacientes sometidos a cirugía traumatológica, con o sin programa de donación autóloga preoperatoria, la EPO ha demostrado su eficacia disminuyendo las necesidades de transfusión alogénica en los pacientes que al inicio presentaban cifras bajas de hemoglobina[61]. Los pacientes con cifras normales de hemoglobina no parecen beneficiarse del tratamiento con EPO[62].

Hierro intravenoso

La introducción de un nuevo preparado de hierro (Fe hidróxido-sucrosa) para administración intravenosa, que no presenta los graves efectos adversos observados con los antiguos preparados, ha vuelto a despertar el interés por este tipo de tratamiento. Su principal indicación es el tratamiento de los pacientes con ferropenia e intolerancia a la administración oral.

Dado que el principal predictor de transfusión en los pacientes sometidos a cirugía traumatológica es la cifra de hemoglobina preoperatoria, el aumento de dicha cifra disminuiría significativamente la probabilidad de transfusión. Un reciente estudio ha demostrado que en pacientes mayores de 65 años intervenidos por una fractura pretrocantérea de fémur, la administración de Fe-sucrosa redujo el porcentaje de pacientes transfundidos y el número de unidades transfundidas, incluso en el grupo con unos niveles de hemoglobina preoperatoria superior a 12/dL[63].

Antifibrinolíticos

El ácido tranexámico (AT) y el ácido épsilon-aminocaproico (AEAC) son análogos del aminoácido lisina, que bloquean la unión del plasminógeno a la fibrina y, por tanto, su conversión a plasmina. El AT bloquea también la unión de la fibrina al centro activo de la plasmina. El AT es de 6 a 10 veces más

potente que el AEAC, y tiene una acción antifibrinolítica mayor y más duradera en los tejidos. En general, se prefiere el uso del AT, excepto en las hemorragias subaracnoideas, en las que la mayor acción vasoconstrictora del AT aumenta la aparición de complicaciones isquémicas. Las dosis de AT generalmente utilizadas son de 15 a 20 mg/kg cada 8 horas por vía oral o intravenosa. Debido a su eliminación eminentemente renal es necesario ajustar la dosis en caso de insuficiencia renal.

Diversos estudios clínicos aleatorizados han demostrado la eficacia del AT para reducir el porcentaje de pacientes transfundidos y el número de unidades de concentrados de hematíes administrados en diferentes contextos clínicos, como en la cirugía cardíaca con circulación extracorpórea[64-65], en el trasplante hepático[66] y en la cirugía ortopédica y traumatológica[67-68]. Otros estudios clínicos aleatorizados han comprobado que la administración de AT disminuye el requerimiento de transfusiones de plaquetas en pacientes tratados con quimioterapia por leucemia aguda[69-70].

En los diversos estudios en los que se controló intencionadamente la aparición de complicaciones tromboembólicas, que constituyen el principal riesgo teórico del tratamiento con AT, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de pacientes tratados con AT y el grupo control.

Aprotinina

La aprotinina es un polipéptido que se obtiene a partir de pulmón bovino. Inhibe la actividad de varias proteasas con serina, como la tripsina, quimotripsina, plasmina y la calicreína. Al inhibir la calicreína, la aprotinina inhibe tanto la activación de la coagulación como la fibrinólisis causada por superficies cargadas negativamente. La aprotinina se administra por vía intravenosa, con una dosis inicial de carga y, posteriormente, en perfusión continua.

La aprotinina en dosis de carga de 2 millones de UIC (unidades inhibidoras de la calicreína) antes de la cirugía, seguida de una infusión de 0,5 millones de UIC durante la cirugía, se ha mostrado eficaz, reduciendo tanto el porcentaje de pacientes transfundidos como el número de unidades transfundidas a pacientes sometidos a diversos tipos de cirugía cardíaca, tanto en cirugía primaria como en cirugía de alto riesgo, como reintervenciones, pacientes en tratamiento con aspirina, endocarditis infecciosa y trasplante cardíaco[71].

Factor VII activado recombinante (FVIIa-r)

El FVIIa-r fue registrado inicialmente para el tratamiento de las hemorragias de los pacientes hemofílicos que poseían un inhibidor contra el factor VIII. El mecanismo por el cual el FVIIa-r consigue mejorar la hemostasia no se conoce con exactitud. Se ha sugerido que, probablemente, actúa aumentando la generación de trombina a través de una activación directa del FX, independientemente del FVIII y del FIX. También se ha demostrado *in vitro* que, en presencia de trombocitopenia, el FVIIa-r aumenta la velocidad de generación de trombina y disminuye el tiempo de respuesta para la activación de plaquetas[72].

Dado que los pacientes con hemorragias masivas después de cirugía o de traumatismos graves que han requerido transfusiones de múltiples componentes sanguíneos también presentan defecto en la generación de trombina, se empezó a utilizar el FVIIa-r en este tipo de pacientes. Existen múltiples trabajos publicados que, en general, analizan casos aislados o pequeñas series, que comunican la eficacia de la administración de una o dos dosis de entre 60 y 120 µg/kg de FVIIa-r para controlar las hemorragias incoercibles[73]. Sin embargo, existen otros autores que discrepan acerca de la eficacia terapéutica del FVIIa-r en estos pacientes[74-75].

Por otra parte, los primeros estudios clínicos aleatorizados publicados, basados en pacientes no hemofílicos en los que se analizó el posible papel hemostático del FVIIa-r (incluido un estudio realizado en pacientes hepatópatas con hemorragia digestiva), no se observaron resultados favorables tras administrar ocho dosis de 100 µg/kg del fármaco. Sólo en los pacientes con hemorragia por varices esofágicas e índice de Child-Pugh B y C se consiguió mejorar el control de la hemorragia. No hubo diferencias entre los dos grupos en cuanto mortalidad o efectos secundarios (incluidas las complicaciones tromboembólicas)[76]. Sin embargo, en una comunicación reciente se refería un riesgo mayor de complicaciones tromboembólicas al administrar FVIIa-r que cuando se empleaban concentrados de complejo protrombínico activados[77].

Actualmente, las dos únicas indicaciones registradas en la Unión Europea para el FVIIa-r son la cirugía en pacientes hemofílicos con inhibidor y en los pacientes afectados de trombastenia de Glanzmann que sean refractarios a las transfusiones de plaquetas por anticuerpos anti IIb-IIIa.

Recambio plasmático

El recambio plasmático (RP) es un procedimiento de depuración no selectiva del plasma, que consiste en la extracción de un volumen considerable del mismo y su sustitución por soluciones que mantengan esencialmente la volemia y la presión oncótica. Actualmente, diversos sistemas de aféresis permiten la realización del procedimiento de forma automatizada.

El RP puede emplearse como recurso terapéutico en las enfermedades en las que exista una sustancia patogénica en el plasma. El efecto favorable dependerá de la posibilidad de eliminar dicha sustancia de la circulación a una velocidad superior a la de producción. En algunos casos, en cambio, la eficacia del RP podría deberse al aporte masivo de un componente deficitario en el plasma del paciente.

En general, los RP se utilizan en combinación con otras terapéuticas. Por ejemplo, en el caso de anticuerpos lesivos para algún órgano o tejido del organismo, propio o trasplantado, es esencial añadir a la extracción del anticuerpo en circulación una terapéutica que bloquee la producción de dicho anticuerpo.

El volumen extraído representa, generalmente, una cantidad algo superior a un volumen plasmático, y la solución de reposición puede ser albúmina humana en dilución adecuada o plasma fresco. La elección de una u otra depende del proceso que se trate. Las soluciones de reposición son la causa de muchas de las reacciones adversas provocadas por los recambios plasmáticos, algunas de las cuales pueden tener gran trascendencia clínica. La administración de plasma no inactivado puede transmitir enfermedades víricas o provocar reacciones de tipo anafiláctico. El empleo de soluciones de albúmina puede originar trastornos importantes como consecuencia de la falta de aporte de diversos componentes plasmáticos que van siendo eliminados durante el recambio (inmunoglobulinas, complemento, factores de la coagulación).

Para evitar los problemas que origina el empleo de soluciones de reposición, se han desarrollado diversos procedi-

mientos más selectivos de depuración del plasma, que eliminan, primordialmente, el componente nocivo y permiten devolver buena parte de los restantes al paciente: adsorción mediante carbón activado y resinas de intercambio iónico, inmunoadsorción con columnas de proteína A, filtración en cascada, etc. Con estos métodos se consigue disminuir, e incluso suprimir por completo, la necesidad de administrar soluciones de reposición.

La baja frecuencia de las enfermedades que se tratan con RP hace difícil la realización de estudios clínicos aleatorizados que sirvan para establecer de forma irrefutable el papel del RP en la terapéutica de esos trastornos. Por ello, resultan de ayuda las conclusiones de los comités y de las conferencias de consenso que, periódicamente, se convocan para definir las indicaciones de los RP. En la tabla 40.16 se recogen las indicaciones para el RP establecidas en un reciente documento publicado por el Grupo de Aféresis Terapéuticas de la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB) y la Asociación Americana de Aféresis (ASA), así como el nivel 0 el grado de eficacia estimado para cada patología. El nivel 1 corresponde a los trastornos en los que los RP se consideran el tratamiento de elección, ya sea aislados o combinados con otras terapéuticas. El nivel 2 corresponde a las situaciones en las que los RP desempeñan un papel complementario a otros tratamientos. En el nivel 3 se incluyen patologías en las que los RP no están claramente indicados, debido a la falta de evidencias acerca de su eficacia, o a la existencia de resultados contradictorios; constituirían un tratamiento desesperado ante un paciente que no responde bien a la terapéutica habitual. En el nivel 4 se agrupan afecciones en las que, aunque en algún momento se haya planteado teóricamente que los RP podían tener un papel, la experiencia disponible ha mostrado su falta de eficacia; su aplicación sólo se debería realizar en el contexto de protocolos de investigación controlados[78].

TABLA 40.16

Indicaciones de los recambios plasmáticos

NIVEL 1
- Enfermedad por almacenamiento de ácido fitánico (enfermedad de Refsum)
- Miastenia *gravis*
- Polineuropatía desmielinizante con IgG e IgA
- Polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria aguda (síndrome de Guillain-Barré)
- Polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica
- Púrpura postransfusional
- Púrpura trombótica trombocitopénica
- Síndrome de Goodpasture

NIVEL 2
- Corea de Sydenham
- Crioglobulinemia
- Crioglobulinemia con polineuropatía
- Enfermedad desmielinizante inflamatoria aguda del SNC
- Enfermedades neuropsiquiátricas infantiles autoinmunes (PANDAS)
- Glomerulonefritis rápidamente progresiva
- Hipercolesterolemia familiar
- Hiperviscosidad secundaria a paraproteinemia
- Inhibidores de los factores de la coagulación
- Insuficiencia renal aguda secundaria a mieloma múltiple
- Receptor de trasplante de progenitores hematopoyéticos ABO incompatible
- Síndrome miasteniforme de Eaton-Lambert

NIVEL 3
- Aloinmunización con refractariedad a las transfusiones de plaquetas
- Anemia aplásica o aplasia pura de serie roja
- Anemia hemolítica autoinmune
- Encefalitis de Rasmussen
- Enfermedad hemolítica del recién nacido
- Envenenamiento o sobredosificación
- Esclerosis múltiple
- Esclerosis sistémica progresiva
- Fenómeno de Raynaud
- Insuficiencia hepática aguda
- Lupus eritematoso sistémico (LES)
- Mieloma múltiple con polineuropatía:
  - Progresiva
  - Recurrente
- Miositis con cuerpos de inclusión
- Polimiositis o dermatomiositis
- Rechazo de trasplante cardíaco
- Síndrome del hombre rígido
- Síndrome urémico hemolítico
- Síndromes neurológicos paraneoplásicos
- Síndrome POEMS
- Trasplante renal:
  - Recidiva de glomeruloesclerosis focal
  - Sensibilización
- Vasculitis

NIVEL 4
- Amiloidosis sistémica
- Artritis reumatoide
- Rechazo de trasplante renal de tipo celular

Para la definición de los niveles, véase el texto.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Blood transfusion in Clinical Medicine. 10.ª ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1997.
2. Issitt PD, Anstee DJ. Applied Blood Group Serology. 4.ª ed. Durham, North Carolina: Montgomery Scientific Publications, 1998.
3. Marsh SG, Albert ED, Bodmer W et al. Nomenclature for factors of the HLA system, 2002. Tissue Antigens 2002; 60:407-464.
4. Schreuder GM, Hurley CK, Marsh SG et al. The HLA Dictionary 2001: a summary of HLA-A, -B, -C, -DRB1/3/4/5, -DQB1 alleles and their association with serologically defined HLA-A, -B, -C, -DR and -DQ antigens. Tissue Antigens 2001; 58:109-140.
5. Auchincloss H Jr, Sultan H. Antigen processing and presentation in transplantation. Curr Opin Immunol 1996; 8:681-687.
6. Shoskes DA, Wood KJ. Indirect presentation of MHC antigens in transplantation. Immunol Today 1994; 15:32-38.
7. Novotny VM, van Doorn R, Witvliet MD, Claas FH, Brand A. Occurrence of allogeneic HLA and non-HLA antibodies after transfusion of prestorage filtered platelets and red blood cells: a prospective study. Blood 1995; 85:1736-1741.
8. Harmer AW, Heads AJ, Vaughn RW. Detection of HLA class I- and class II-specific antibodies by flow cytometry and PRA-STAT screening in renal transplant recipients. Transplantation 1997; 63:1828-1832.
9. Technical Manual. 14.ª ed. Bethesda, Maryland, American Association of Blood Banks, 2002.
10. Petz LD, Swisher SN, Kleinman S, Spence RK, Strauss RG. Clinical practice of transfusion medicine. 3.ª ed. New York, Churchill Livingstone, 1996.

CAPÍTULO 41

Aspectos hematológicos en medicina interna

E. Abella, C. Pedro y R. Salinas

ÍNDICE

Introducción
Neoplasias
- Anemia
- Poliglobulia
- Leucocitosis
- Neutropenia
- Trombocitosis
- Trombocitopenia
- Alteraciones de la hemostasia

Conectivopatías
- Anemia
- Leucopenia
- Trombocitopenia
- Alteraciones de la hemostasia

Anemia de las enfermedades crónicas
- Etiopatogenia
- Diagnóstico
- Tratamiento

Enfermedades renales
- Anemia
- Poliglobulia
- Alteraciones de la hemostasia

Endocrinopatías
- Tiroides
- Gónadas
- Suprarrenales
- Hipófisis
- Paratiroides

Hepatopatías
- Anemia
- Leucocitos
- Plaquetas
- Hemostasia

Embarazo
- Anemia
- Plaquetas
- Hemostasia

Infecciones
- Virus
- Infecciones por bacterias, hongos y parásitos
- Síndrome hemofagocítico

Bibliografía

INTRODUCCIÓN

En muchos de los procesos y entidades no hematológicas pueden existir alteraciones directas o indirectas de la hematopoyesis o de los parámetros hemoperiféricos, así como trastornos de la hemostasia. En algunas ocasiones, estas manifestaciones forman parte del cortejo de signos y síntomas que acompañan a una enfermedad, por lo general sistémica, que afecta en mayor o menor grado a diferentes órganos. En otros casos, la alteración hematológica es una complicación aguda de dicho proceso y puede tener un valor pronóstico infausto.

En este capítulo se tratarán los aspectos hematológicos de las enfermedades crónicas, como neoplasias, procesos inflamatorios crónicos, procesos infecciosos agudos o crónicos, cuyo representante más significativo es la infección por el VIH y otras enfermedades sistémicas, como vasculitis, conectivopatías, etc. Asimismo, se tratarán los trastornos relacionados con el embarazo, tanto los secundarios a los cambios hormonales y deficitarios como posibles complicaciones relacionadas con citopenias y trastornos de la hemostasia.

NEOPLASIAS

Las alteraciones hematológicas son muy frecuentes en el curso de las enfermedades neoplásicas, y pueden estar relacionadas tanto con la propia enfermedad como con el tratamiento quimioterápico y/o radioterápico aplicado.

Anemia

La anemia es la alteración hematológica más frecuente en las enfermedades neoplásicas. En el 30-90% de los pacientes se produce en el transcurso de la enfermedad, y su etiología es multifactorial (tabla 41.1). Sus principales expresiones son la anemia de las enfermedades crónicas, la anemia derivada de pérdidas sanguíneas y la secundaria al tratamiento[1].

En la mayoría de los casos, la determinación del hemograma, los reticulocitos, la sideremia, la ferritina y el aspirado medular permiten establecer el diagnóstico.

TABLA 41.1

Causas de anemia en las neoplasias

Anemia de las enfermedades crónicas
Anemia por pérdidas hemáticas agudas o crónicas
Anemia relacionada con el tratamiento
Anemia megaloblástica
Anemia por invasión de la médula ósea
Eritroblastopenia
Anemia hemolítica:
Autoinmune
Microangiopática
Asociada a fármacos

Anemia de las enfermedades crónicas

Es la forma de anemia más frecuente en las neoplasias sólidas, y también se observa en el curso de enfermedades inflamatorias o infecciosas crónicas. Su etiología es compleja y está relacionada con la liberación de citocinas implicadas en procesos inflamatorios e inmunes, como la interleucina 1 (IL-1), el factor de necrosis tumoral (TNF) y el interferón-γ (IFN-γ), que actúan inhibiendo la eritropoyesis, disminuyendo la producción de eritropoyetina (EPO) y bloqueando su efecto sobre los progenitores eritroides, todo lo cual determina que la anemia sea moderada con valores de EPO inadecuados al grado de anemia[2].

Clínicamente, cursa con una anemia moderada normocítica normocroma, con reticulocitos normales, sideremia baja y ferritina normal o elevada. El aspirado medular es normal o con ligera hiperplasia eritropoyética, y se observa un patrón de bloqueo de hierro medular con hierro macrofágico abundante y proporción de sideroblastos disminuida.

Los síntomas suelen ser leves debido a su inicio insidioso y, frecuentemente, están eclipsados por otras manifestaciones del proceso neoplásico.

La anemia mejora al tratar la enfermedad causante, y están indicadas las transfusiones de hematíes si el grado de anemia es intensa o existen síntomas clínicos relacionados. Recientemente, numerosos estudios han demostrado la utilidad de la eritropoyetina recombinante humana (r-HuEPO: 150 UI/kg subcutánea, tres veces por semana) si la hemoglobina es inferior a 105 g/L, con una reducción de las necesidades transfusionales y mejoría de la calidad de vida en el 50% de los pacientes[3,4].

Anemia secundaria a pérdidas de sangre

Las neoplasias digestivas cursan, generalmente, con ferropenia, la cual, en muchos casos, es una de las primeras manifestaciones de la enfermedad. Otras neoplasias, como el carcinoma renal, el vesical o los tumores ginecológicos, pueden cursar también con anemia ferropénica, en ocasiones, difícil de diferenciar de la anemia de las enfermedades crónicas debido a su coexistencia. En general, se observan valores bajos de sideremia y ferritina, y el aspirado medular muestra una disminución de los depósitos de hierro.

El tratamiento consiste en la administración de hierro oral o parenteral, si bien en muchas ocasiones la respuesta no es óptima debido a la presencia de otra causa de anemia relacionada con el proceso oncológico.

Anemia relacionada con el tratamiento

La mielosupresión secundaria al tratamiento citostático es uno de los principales mecanismos de anemia en el paciente oncológico, cursando generalmente con macrocitosis periférica y displasia con megaloblastosis medular.

El 20% de los pacientes tratados con quimioterapia precisa transfusiones durante el tratamiento, dependiendo tanto de la intensidad de dosis como del agente quimioterápico administrado. Así, los regímenes terapéuticos que contienen cisplatino se asocian con frecuencia con anemia (40%) que, en muchos casos, requiere la administración de transfusiones. Actualmente, se recomienda la r-HuEPO en la anemia asociada al tratamiento quimioterápico si la hemoglobina es inferior a 105 g/L. La dosis inicial es de r-HuEPO: 150 UI/kg subcutánea, tres veces por semana durante 4-6 semanas, aumentando la dosis, si no existe respuesta, a 300 UI/kg[3,4]. La administración de una dosis semanal de r-HuEPO: 40.000 UI o de darbopoyetina alfa (150 µg semanal) parece ser igualmente efectiva, mejorando la calidad de vida y reduciendo el soporte transfusional en la mitad de los pacientes.

La radioterapia puede provocar un daño tanto reversible como irreversible sobre el microambiente de la médula ósea, lo cual puede producir una anemia hiporregenerativa, dependiendo de la dosis, del lugar de irradiación y de la relación temporal con la quimioterapia. El tratamiento con r-HuEPO en estos casos no está estandarizado.

Anemia megaloblástica

La anemia megaloblástica en pacientes neoplásicos puede obedecer a diversas etiologías, ya sea por déficit nutricional derivado de la anorexia que presenta el paciente (déficit de ácido fólico), por malabsorción de vitamina B_{12} en gastrectomizados o por excesivo consumo.

Algunos citostáticos, como el metotrexato, los antagonistas de las purinas (mercaptopurina, tioguanina), antagonistas de las pirimidinas (citarabina, 5-fluorouracilo) y agentes alquilantes (ciclofosfamida) pueden producir una anemia megaloblástica por trastorno de la síntesis del DNA celular.

Generalmente, se asocia con la anemia de enfermedades crónicas vinculada a las neoplasias.

Anemia por infiltración de la médula ósea

La infiltración medular neoplásica es frecuente en el cáncer de mama, pulmón (de célula pequeña), próstata, tiroides, melanoma y linfomas. En la mayoría de los casos, las células se agrupan en agregados sin una arquitectura reconocible y, en otras ocasiones, pueden adoptar la disposición del tejido del que provienen. Frecuentemente, existe fibrosis medular y un síndrome leucoeritroblástico en sangre periférica que consiste en la presencia de eritroblastos y granulocitos inmaduros en un porcentaje moderado. La observación de una reacción leucoeritroblástica obliga a realizar el diagnóstico diferencial entre la presencia de metástasis intramedulares, metaplasia mieloide agnogénica, reacción posthemorrágica o posthemolítica aguda o infecciones agudas. En algunos casos, la poiquilocitosis puede ser debida a una mielofibrosis medular secundaria.

El tratamiento consiste, aparte del tratamiento de la enfermedad neoplásica, en soporte transfusional, si el grado de anemia es intenso, o r-HuEPO[4,5].

Eritroblastopenia

La eritroblastopenia adquirida se puede observar en el 4-5% de los timomas, y se ha descrito la presencia de autoanticuerpos contra los eritroblastos y la eritropoyetina y su asociación con otras afecciones inmunológicas, como la miastenia *gravis*, hipogammaglobulinemia o artritis reumatoide. También se ha descrito asociada a hemopatías malignas, como la enfermedad de Hodgkin, linfomas, leucemia aguda linfoblástica, leucemia linfática crónica, mieloma múltiple, leucemia de linfocitos grandes granulares y tumores sólidos, como el carcinoma de mama, pulmón, gástrico, de vías biliares y el sarcoma de Kaposi.

El aspirado medular muestra una evidente reducción de los eritroblastos, y los valores de eritropoyetina suelen ser elevados, con una reticulocitopenia intensa. El tratamiento en el caso de eritroblastopenia asociada con timoma consiste en la timectomía, que es efectiva en una tercera parte de los casos, si bien en la mayoría de ocasiones es necesario el tratamiento con corticoides, inmunoglobulina antitimocítica, ciclosporina o ciclofosfamida[6].

Anemia hemolítica

Anemia hemolítica autoinmune

La anemia hemolítica autoinmune se asocia con relativa frecuencia con síndromes linfoproliferativos. El 20-25% de los pacientes afectados de leucemia linfática crónica y el 45% de los afectados por linfadenopatía angioinmunoblástica la presentan en el transcurso de la enfermedad. Sin embargo, la asociación con neoplasias sólidas es poco frecuente; se ha descrito en el carcinoma de ovario, estómago, pulmón, gástrico, timoma, etc. (tabla 41.2)[7].

En la mayoría de los casos el comienzo es insidioso y puede confundirse con los síntomas de la propia enfermedad. La presencia de anemia con reticulocitosis, esferocitosis y prueba de la antiglobulina directa (PAD) o Coombs directo positivo confirman el diagnóstico. El examen de la médula ósea muestra una hiperplasia eritroblástica y, ocasionalmente, ligera megaloblastosis por déficit de folato.

El tratamiento consiste, en primer lugar, en tratar la enfermedad neoplásica, si bien en muchos casos se deben asociar corticoides, inmunoglobulinas intravenosas en altas dosis, agentes alquilantes o incluso esplenectomía[7]. La anemia hemolítica por anticuerpos fríos o crioaglutininas es poco frecuente en las neoplasias no hematológicas, habiéndose descrito en el carcinoma pulmonar, carcinoma adrenal metastático y tumor mixto de parótida.

TABLA 41.2

Neoplasias que pueden asociarse a anemia hemolítica autoinmune

Síndromes linfoproliferativos
Leucemia linfática crónica
Macroglobulinemia de Waldenström
Enfermedad de Hodgkin
Linfoma no Hodgkin
Mieloma múltiple
Linfadenopatía angioinmunoblástica
Neoplasias sólidas
Carcinoma de ovario
Timoma
Carcinoma broncopulmonar
Cáncer de mama
Cáncer gástrico
Hipernefroma
Sarcoma de Kaposi
Seminoma
Cáncer de colon

Anemia hemolítica microangiopática

La incidencia de anemia hemolítica microangiopática (AHM) asociada con neoplasias es escasa, y se ha descrito en el curso del adenocarcinoma gástrico diseminado (52% de los casos descritos), cáncer de mama (13-14%), cáncer de pulmón (10%), páncreas (6%) y neoplasias de origen desconocido[8]. No se conoce con exactitud la etiología de la AHM asociada con cáncer, que podría ser en parte debida a la coagulación intravascular diseminada (CID) causada por sustancias procoagulantes producidas por las células tumorales, a los microémbolos de células tumorales que causarían fragmentación de los hematíes y a la existencia de hemólisis secundaria a la lesión vascular producida por inmunocomplejos circulantes. Cabe subrayar que, así como la CID por ella misma es causa de anemia hemolítica microangiopática en alrededor de un tercio de casos, la microangiopatía trombótica o síndrome hemolítico urémico, sintomático de la acción de diversos fármacos antitumorales que se mencionan en el apartado siguiente, cursa regularmente sin CID. Conviene pues aclarar, aunque sobrepase el tema concreto de las neoplasias, la obvia diferencia existente entre: *a*) la anemia hemolítica microangiopática como manifestación sintomática (que acompaña a ciertas valvulopatías, a algunas neoplasias, a la CID y a la microangiopatía trombótica o síndrome hemolítico urémico); *b*) la CID como fenómeno de etiología múltiple y muy compleja que, en el 33% de los casos, cursa con anemia hemolítica microangiopática, y *c*) el síndrome hemolítico urémico o microangiopatía trombótica, que cursa siempre con anemia hemolítica microangiopática, pero sin CID.

En la mayoría de los casos, el inicio es agudo, con un síndrome hemolítico intravascular: reticulocitosis, aumento de los valores de LDH, hiperbilirrubinemia indirecta, descenso de la haptoglobina y presencia de esquistocitos. La trombocitopenia es frecuente, así como una reacción leucoeritroblástica, y se observan en el 50% de los casos signos biológicos de CID[8]. En el 60% de los casos se pueden observar células neoplásicas en el aspirado medular.

El pronóstico es pobre, con una mediana de supervivencia entre 3 y 8 semanas desde el diagnóstico; el tratamiento consiste, básicamente, en el de la propia neoplasia.

Anemia hemolítica secundaria a fármacos

El 2% de los pacientes tratados con mitomicina C pueden presentar un síndrome hemolítico urémico o microangiopatía trombótica, con anemia hemolítica microangiopática, insuficiencia renal, plaquetopenia e hipertensión. Este cuadro clínico depende de la dosis total de mitomicina administrada, pudiendo llegar a afectar al 30% de los casos tratados si se superan los 70 mg/m^2. La etiología no está clara, habiéndose detectado, en algunos casos, complejos inmunes circulantes que podrían ser la causa del fracaso renal. Los datos de labo-

ratorio confirman la fragmentación eritrocitaria y hemólisis intravascular, con la presencia de esquistocitosis (en la casi totalidad de los casos y como signo de gran valor diagnóstico), reticulocitosis, disminución de la haptoglobina, plaquetopenia en más del 80% de pacientes, aumento de la LDH y de la creatinina, y proteinuria. El cuadro es irreversible y refractario al tratamiento, habiéndose descrito algunos casos de respuesta al recambio plasmático[9,10].

Cisplatino, bleomicina, daunorubicina, arabinósido de citosina, deoxicoformicina y pentostatina pueden presentar también, excepcionalmente, un síndrome hemolítico urémico secundario[10].

Otros citostáticos como cisplatino, oxaliplatino, tenopósido, melfalán, fluorouracilo y metotrexato pueden producir una anemia hemolítica autoinmune por el mecanismo del hapteno, con positividad de la PAD. El tratamiento, en estos casos, consiste en la supresión del fármaco.

Poliglobulia

La poliglobulia puede observarse en diversas neoplasias sólidas, principalmente en el carcinoma renal (1-3%), generalmente asociado con el aumento de los valores de EPO. El cuadro se resuelve con la extirpación del tumor, y puede reaparecer en casos de recidiva tumoral o metástasis.

El hepatocarcinoma puede presentar ocasionalmente una poliglobulia secundaria por producción de EPO extrarrenal. Otros tumores, como el hemangioblastoma cerebeloso, feocromocitoma, cancer de pulmón o los tumores ováricos productores de andrógenos, pueden presentar asimismo poliglobulia moderada, que remite con el control del tumor.

El diagnóstico diferencial debe realizarse con la *policitemia vera*. Los valores elevados de EPO, junto con ausencia de leucocitosis, trombocitosis, basofilia, índice de FAG normal, y la ausencia de crecimiento de BFU-E endógeno en el cultivo *in vitro* de progenitores eritroides, permiten confirmar el diagnóstico de poliglobulia secundaria.

Leucocitosis

Una leucocitosis moderada (15×10^9/L) es relativamente frecuente en algunos tumores sólidos, como adenocarcinoma gástrico, cáncer de pulmón, páncreas, renal, tumores cerebrales y melanoma maligno.

En algunas ocasiones, puede observarse una reacción leucemoide neutrofílica con cifras de leucocitos que pueden superar los 50×10^9/L, siendo el 80% neutrófilos maduros. La etiología de este cuadro obedece a la producción por el mismo tumor de factores estimulantes de colonias (G-CSF, GM-CSF, IL-3, IL-1) sin que exista un tratamiento específico.

Neutropenia

La neutropenia en pacientes neoplásicos es debida, generalmente, a la mielodepresión del tratamiento quimioterápico o radioterápico, o a la infiltración medular.

La neutropenia secundaria al tratamiento quimioterápico suele ser reversible a los 4-7 días, pero ocasionalmente pueden producirse neutropenias prolongadas o intensas en el 20-25% de los esquemas quimioterápicos habituales (exceptuando los empleados en intensificación con altas dosis o en las leucemias agudas) que pueden provocar la reducción de las dosis o retrasos en la administración del tratamiento. En estos casos, y en la neutropenia febril, está indicada la administración de factores de crecimiento hematopoyético (G-CSF)[11,12]. La administración profiláctica de G-CSF está indicada en los casos en que existe un riesgo superior al 40% de neutropenia febril.

Trombocitosis

La trombocitosis es una característica frecuente de los síndromes mieloproliferativos crónicos. La trombocitosis secundaria a neoplasias sólidas puede aparecer en el curso de neoplasias epiteliales, principalmente en el carcinoma de pulmón, mama, ovario, tumores digestivos, mesotelioma y en los linfomas. El aumento de la cifra de plaquetas suele ser moderado, y desaparece con el control de la neoplasia sin que exista un tratamiento específico. Su etiología podría estar relacionada con un exceso de producción de IL-6, GM-CSF, G-CSF y trombopoyetina[13].

Trombocitopenia

La trombocitopenia en pacientes neoplásicos puede ser secundaria al tratamiento quimioterápico, radioterápico, infiltración medular, hiperesplenismo, infecciones o CID. La duración de la trombocitopenia secundaria a quimioterapia es de 7 días en la mayoría de los esquemas de tratamiento, si bien algunos citostáticos como la mitomicina C y las nitrosoureas pueden provocar una trombocitopenia más duradera. Generalmente, no requiere tratamiento, y sólo en casos de trombocitopenia grave o con clínica hemorrágica son necesarias las transfusiones de plaquetas.

La trombocitopenia inmune es frecuente en la leucemia linfática crónica y linfomas, y se ha descrito en raras ocasiones asociada con neoplasias sólidas, como el cáncer de pulmón, de mama, los tumores gastrointestinales y los testiculares. El tratamiento consiste en la administración de corticoides, inmunoglobulinas intravenosas en altas dosis o incluso esplenectomía.

Alteraciones de la hemostasia

Las alteraciones de la hemostasia son muy frecuentes en las neoplasias, y se presentan tanto fenómenos trombóticos como complicaciones hemorrágicas debidas principalmente a trastornos plaquetarios o a coagulopatía de consumo[14].

Coagulación intravascular diseminada

El 50-70% de los pacientes con cáncer presenta alteraciones de laboratorio indicativas de CID, aunque la mayoría no presenta complicaciones hemorrágicas[14]. La CID se puede observar, aparte la leucemia aguda promielocítica, en neoplasias sólidas, como el adenocarcinoma de próstata, los tumores gastrointestinales, el cáncer de ovario o de pulmón y el melanoma. El curso, generalmente, no es agudo, pero puede acelerarse con la manipulación quirúrgica del tumor o la presencia de infecciones. La etiología es multifactorial y provocada, en parte, por la liberación de tromboplastina tisular a la circulación por las células tumorales, por la producción del factor tisular y enzimas que activan el factor X del plasma, por la agregación plaquetaria inducida por las células tumorales, o por la activación de la coagulación por proteasas granulocíticas de las células leucémicas[14,15]. La CID puede ser la primera manifestación de un cáncer oculto.

El tratamiento consiste fundamentalmente en tratar el proceso causante. Se debe efectuar terapia sustitutiva y contemplar la posible indicación de heparina. Los antifibrinolíticos están indicados sólo cuando en la CID predomina una hiperfibrinólisis, y siempre se asociarán con heparina.

Trombosis

La incidencia de fenómenos trombóticos y cáncer es frecuente, y su etiología, multifactorial. En ocasiones, se presenta como primera manifestación de una neoplasia a la cual precede, circunstancia que se observa, sobre todo, en el adenocarcinoma gastrointestinal, páncreas, pulmón, mama, y en los tumores urogenitales y cerebrales. Puede ser secundaria al estado de hipercoagulabilidad de algunas neoplasias, al cuadro tóxico del paciente que determina que esté encamado más tiempo del necesario, a la compresión vascular o infiltración vascular por el tumor o incluso a la liberación de sustancias procoagulantes y fibrinolíticas, así como citocinas (IL-1, TNF y factor de crecimiento endotelial vascular) por las células tumorales[14,15]. Se han detectado valores elevados de factor V, VII, VIII, IX y XI y fibrinógeno. Algunos tumores pueden liberar factor tisular, que activa el sistema extrínseco de la coagulación, o liberar proteasas celulares que activan directamente el factor X, contribuyendo así a la aparición de trombosis venosa profunda que, en muchos casos, es migratoria (síndrome de Trousseau)[16]. Este fenómeno de tromboflebitis migratoria se ha observado principalmente en los cánceres de páncreas, pulmón, mama, colon y renal. El tratamiento consiste en tratar la neoplasia, movilizar al paciente y administrar heparina, a pesar del riesgo hemorrágico de estos pacientes.

Los anticuerpos antifosfolípido pueden hallarse también en el curso de algunas neoplasias sólidas, aumentando así el riesgo trombótico[14].

La *endocarditis trombótica no bacteriana* es un síndrome paraneoplásico que se caracteriza por la presencia de lesiones verrugosas compuestas de fibrina y plaquetas en las válvulas del ventrículo izquierdo. Clínicamente, se manifiesta por la presencia de embolias arteriales cerebrales que pueden afectar también a las extremidades, riñón y corazón. Cursa sin fiebre, con alteraciones neurológicas, y en la tercera parte de los pacientes se ausculta un soplo cardíaco. La presencia de infartos cerebrales en un paciente neoplásico con CID puede indicar la presencia de endocarditis trombótica no bacteriana que, a veces, es difícil de evidenciar en el ecocardiograma, siendo más frecuente en los carcinomas de pulmón y páncreas. El tratamiento es el de la enfermedad subyacente, desaconsejándose los anticoagulantes[14,17].

Existe un riesgo adicional relacionado con el tratamiento. Estudios realizados en cáncer de mama demuestran un aumento de fenómenos trombóticos en pacientes que reciben tratamiento quimioterápico adyuvante (6 *vs* 0,8%) y tratamiento hormonal con tamoxifeno, aumentando el riesgo si se administran ambos[18].

La *microangiopatía trombótica/síndrome hemolítico urémico* (MT/SHU) puede presentarse en el 5-6% de los pacientes con cáncer, principalmente en el adenocarcinoma gástrico, el cáncer de mama, de colon, de pulmón y el timoma[10,14]. Su incidencia aumenta en los pacientes tratados con mitomicina C. Su etiopatogenia no está clara, aunque puede estar relacionada con las lesiones del endotelio vascular por inmunocomplejos circulantes y por la liberación de citocinas que activarían la coagulación. El estudio histológico revela la presencia de depósitos subendoteliales de fibrina, con trombosis de las pequeñas arterias.

Clínicamente, cursa con una anemia hemolítica microangiopática con esquistocitosis prácticamente constante, trombocitopenia grave en el 80-95% de los casos y prueba de Coombs directo negativo. Las manifestaciones neurológicas, como cefalea, confusión, hemiparesia, hemiplejía y coma, son frecuentes (síndrome de Moschowitz). La disfunción renal es, asimismo, habitual, observándose en más del 80% de los pacientes. Cursa sin CID, aunque en un pequeño porcentaje de casos puede detectarse hiperfibrinólisis.

La MT/SHU se puede presentar como una complicación precoz del trasplante de progenitores hematopoyéticos en el 6% de los casos (alo-TPH: 13%; auto-TPH: 4%). En su etiología intervienen, entre otras causas, la enfermedad del injerto contra el huésped, las infecciones oportunistas (CMV, hongos) y el tratamiento con ciclosporina A, que actúan mediante la liberación de citocinas activando la coagulación y la agregación plaquetaria[19]. El pronóstico es muy grave si existe insuficiencia renal o fenómenos neurológicos, si el inicio es precoz después del TPH y si el paciente recibe tratamiento con ciclosporina A. El tratamiento consiste en recambio plasmático, tratar la EICH con otros fármacos y tratamiento de soporte[11,19].

Otras alteraciones de la hemostasia

La hiperfibrinólisis primaria es poco frecuente, y puede aparecer en el cáncer de próstata, carcinoma de páncreas y pulmón. Se produce por la liberación del activador del plasminógeno por los tejidos neoplásicos, y se diferencia de la hiperfibrinólisis secundaria a la CID en que no existe trombocitopenia y en la ausencia de dímeros D. El tratamiento consiste en administrar terapia sustitutiva en casos de pérdidas hemáticas abundantes, e inhibidores de la fibrinólisis (ácido tranexámico o ácido ε-aminocaproico).

Las neoplasias pueden dar lugar excepcionalmente a inhibidores patológicos de uno o más componentes del mecanismo de coagulación, habiéndose descrito inhibidores frente a la actividad de la protrombina, y de los factores V, VII, VIII y X, siendo más frecuente la inhibición de la interacción trombina-fibrinógeno[14,15]. En los síndromes linfoproliferativos cabe observar un déficit adquirido del factor de Von Willebrand, sea por la acción de anticuerpos contra este factor o bien porque éste se adhiere a las células proliferantes. Asimismo, tanto en el mieloma múltiple como en la amiloidosis puede detectarse en el componente monoclonal actividad contra el factor VIII, lo cual explicaría los discretos alargamientos del tiempo de cefalina observables en tales casos.

Otros trastornos de coagulación, como la disfibrinogenemia y la deficiencia de complejo protrombínico, se pueden producir en el hepatocarcinoma y en las metástasis hepáticas.

CONECTIVOPATÍAS

Las enfermedades inflamatorias reumáticas presentan en muchas ocasiones anemia, que en el caso concreto de la artritis reumatoide reúne las características propias de la clásica anemia de las enfermedades crónicas. Entre las conectivopatías, el lupus eritematoso sistémico (LES) es el que se asocia con mayor frecuencia con alteraciones hematológicas; son menos frecuentes en el síndrome de Sjögren, la

esclerodermia, la dermatomiositis, la conectivopatía mixta y la polimialgia reumática.

Las alteraciones hematológicas en el LES constituyen uno de los criterios de la American Rheumatism Association para el diagnóstico de la enfermedad. La anemia hemolítica, la leucopenia (inferior a 4×10^9/L en dos o más ocasiones), la linfopenia (inferior a $1,5 \times 10^9$/L en dos o más ocasiones), la trombocitopenia (inferior a 100×10^9/L) en ausencia de tratamientos que puedan producir una disminución del número de plaquetas y los anticuerpos antifosfolípido, pueden aparecer en el transcurso de la enfermedad y la presencia de una o varias de estas alteraciones constituye uno de los criterios que se precisan para su diagnóstico[20].

Anemia

El 60-80% de los pacientes afectados por LES presentan anemia durante la enfermedad, y en la mayoría de los casos es multifactorial.

La anemia de las enfermedades crónicas es la que se observa con mayor frecuencia en el LES. Su etiología es poco conocida, y parece estar relacionada con la liberación de IL-1, FNT e IFN-γ, que actuarían inhibiendo la eritropoyesis. Es una anemia normocítica normocroma, con un recuento de reticulocitos bajo en relación con el grado de anemia. La sideremia y la capacidad de fijación del hierro están disminuidas, y la ferritina, elevada. En el aspirado medular hay un patrón de bloqueo del hierro, con disminución de sideroblastos y aumento del hierro macrofágico. En general, se trata de una anemia moderada, y se relaciona con la actividad de la enfermedad, mejorando con el tratamiento del LES y corticoides a dosis bajas[20].

La anemia hemolítica autoinmune se asocia con frecuencia con enfermedades reumáticas. Se puede presentar en el 10% de los pacientes con LES y, en ocasiones, puede preceder a la enfermedad durante años. Está mediada por anticuerpos calientes tipo IgG (ocasionalmente, IgA o IgM), con una prueba de Coombs positiva para IgG y complemento, detectándose en muchos casos anticuerpos libres en el suero. En el 50% de los casos se puede hallar un Coombs directo positivo de tipo complemento, que no es indicativo de hemólisis y se debe a la presencia de inmunocomplejos unidos a los receptores para C3b del hematíe[20,21].

La gravedad del cuadro clínico es variable, en algunos casos es de inicio lento y, en otros, ciertamente rápido, con fiebre, dolor abdominal, lumbalgia e ictericia. En sangre periférica se pueden observar anisocitosis, monocitosis, esferocitos, eritroblastos y cuerpos de Howell-Jolly, así como aumento de la bilirrubina, reticulocitosis y disminución de la haptoglobina. El tratamiento de la AHAI aguda consiste en la administración de corticoides en dosis elevadas (1-2 mg/kg/día), y en caso de refractariedad, están indicados los fármacos inmunosupresores como la azatioprina, ciclofosfamida, danazol o altas dosis de inmunoglobulinas intravenosas. La AHAI moderada suele responder a dosis bajas de corticoides.

Otras causas de anemia en las enfermedades inflamatorias reumáticas y en el LES son la insuficiencia renal, la eritroblastopenia, la anemia hemolítica por crioaglutininas o la anemia hemolítica microangiopática.

Leucopenia

La leucopenia es más frecuente en el LES que en el resto de enfermedades reumáticas.

Una leucopenia inferior a 4×10^9/L se observa en el 60% de los casos de LES, y no siempre indica actividad de la enfermedad ni es responsable de la mayor incidencia de infecciones que presentan estos pacientes. Su etiología es multifactorial, pudiendo ser secundaria a un déficit de producción mediado por linfocitos T supresores y la presencia de anticuerpos antigranulocíticos o anti-Ro[20].

La linfopenia inferior a $1,5 \times 10^9$/L se observa en el 60 al 80% de los pacientes en fase de actividad de la enfermedad. Se debe a una reducción tanto de los linfocitos T como de los linfocitos B, y se ha relacionado con la presencia de anticuerpos antilinfocíticos de clase IgM no específicos[21].

Trombocitopenia

La trombocitopenia, generalmente inmune, es frecuente en las enfermedades reumáticas, principalmente en el LES, habiéndose descrito también en la dermatomiositis, la esclerodermia y la conectivopatía mixta.

Una trombocitopenia moderada la presentan el 25-50% de los pacientes de LES, siendo sólo grave en el 10% de los casos, con cifras de plaquetas inferiores a 10×10^9/L. La trombocitopenia puede ser la primera manifestación de la enfermedad durante años, hallándose asociada, en algunas ocasiones, a AHAI (síndrome de Evans)[21].

Su etiología es la destrucción periférica de plaquetas mediada por anticuerpos antiplaquetarios. El 60% de los pacientes presenta anticuerpos antiplaquetas en el transcurso de la enfermedad, en la mayoría de los casos de tipo IgG solo o asociado a IgM[22].

El tratamiento es común al de la trombocitopenia autoinmune idiopática. La trombocitopenia moderada o asintomática no requiere tratamiento, y las formas graves precisan tratamiento con corticoides en dosis altas. En casos de refractariedad, están indicadas las inmunoglobulinas intravenosas en dosis elevadas, azatioprina, ciclofosfamida o danazol.

Alteraciones de la hemostasia

El 10-30% de los pacientes afectados de LES presenta un trastorno de la coagulación secundario a la presencia de anticoagulante lúpico (AL) y otros anticuerpos antifosfolípido (anticuerpo anticardiolipina). El AL es un anticuerpo dirigido contra complejos proteína-fosfolípido que impide la correcta unión de los factores de la coagulación a las superficies fosfolipídicas. El AL *in vitro* inhibe la coagulación, pero *in vivo* provoca un aumento del riesgo de sufrir fenómenos trombóticos, principalmente trombosis venosas profundas, tromboembolismos pulmonares, pérdidas fetales, etc. Su presencia se sospecha por la prolongación del tiempo de tromboplastina parcial activada (TTP) y por la incapacidad del plasma normal para corregir esta prolongación. Las pruebas más sensibles para su detección son el test de Rusell y el test de Exner. Los anticuerpos anticardiolipina se detectan mediante técnicas de ELISA.

Los pacientes con LES y anticuerpos antifosfolípido (AAF) presentan un riesgo aumentado de trombosis que oscila entre el 35-42%. La asociación de trombosis venosa y/o arterial, abortos de repetición, plaquetopenia inmune y AAF se conoce como síndrome antifosfolípido y lo presenta el 10% de los pacientes al inicio de la enfermedad. El tratamiento de los pacientes con AAF asintomáticos consiste en

suprimir los factores de riesgo trombótico adicionales (hipertensión, dislipemia, tabaco, obesidad, diabetes, anticonceptivos orales, etc.) y administrar heparina si son intervenidos quirúrgicamente. En pacientes que presentan trombosis recurrentes, el tratamiento de elección es una anticoagulación prolongada[23].

Ocasionalmente, se han detectado anticuerpos frente a los factores de la coagulación II, VIII, IX, XI, XII, XIII, si bien los fenómenos hemorrágicos son raros.

ANEMIA DE LAS ENFERMEDADES CRÓNICAS

Los pacientes afectados de infecciones crónicas, enfermedades inflamatorias crónicas y neoplasias, pueden presentar una anemia moderada de etiología compleja y multifactorial denominada anemia de las enfermedades crónicas (AEC).

La AEC es muy frecuente (la segunda en frecuencia después de la ferropénica), y es una de las principales causas de anemia en los pacientes hospitalizados (52%), hallándose con mucha frecuencia asociada con la artritis reumatoide (27%)[24]. En la tabla 41.3 se resumen las principales causas de AEC.

TABLA 41.3

Principales causas de la anemia de las enfermedades crónicas

Infecciones crónicas
- Infecciones pulmonares
- Endocarditis bacteriana subaguda
- Osteomielitis
- Pielonefritis crónica
- Meningitis
- Infecciones crónicas por hongos
- Sida
- Enfermedad inflamatoria pélvica

Procesos inflamatorios crónicos no infecciosos
- Lupus eritematoso sistémico
- Artritis reumatoide
- Fiebre reumática
- Traumatismos graves
- Abscesos estériles
- Hipertermia e hipotermia graves
- Vasculitis

Neoplasias
- Linfoma de Hodgkin y no Hodgkin
- Leucemias
- Carcinomas
- Mieloma múltiple

Otros procesos
- Insuficiencia cardíaca congestiva
- Diabetes mellitus descompensada
- Tromboflebitis
- Hepatopatía enólica

Idiopática

Etiopatogenia

Su etiología es muy compleja y parece estar relacionada con la liberación de citocinas implicadas en procesos inflamatorios e inmunes, principalmente la IL-1, TNF e IFN-γ. En el suero de pacientes afectados de artritis reumatoide y otros procesos asociados con la AEC se han hallado concentraciones elevadas de estas citocinas, que se correlacionan directamente con el grado de anemia y la inhibición *in vitro* de los precursores eritropoyéticos[2].

Durante el proceso inflamatorio se produce una liberación de IL-1, TNF-α e INF-γ que, mediante su interacción y la liberación de otras citocinas (G-CSF, GM-CSF, etc.), actuarían inhibiendo la hematopoyesis. La activación de estas citocinas produciría, por una parte, y por un mecanismo no conocido, una disminución de la vida eritrocitaria y, por otra parte, actuarían inhibiendo la eritropoyesis y alterando el metabolismo del hierro, provocando un bloqueo en los macrófagos. La depresión de la eritropoyesis se produce por mecanismos todavía no bien conocidos, con inhibición parcial de la secreción de EPO y bloqueo de su efecto sobre los progenitores eritroides, lo que ocasionaría anemia leve con valores de EPO inadecuados al grado de anemia. Por otra parte, la IL-1 provocaría la activación leucocitaria a través de la liberación de G-CSF y GM-CSF, con producción de lactoferrina que favorecería el bloqueo del hierro en los macrófagos[2,25].

Diagnóstico

Es una anemia moderada, normocítica, normocroma, con un recuento de reticulocitos normal o bajo. La sideremia y la transferrina están disminuidas, la ferritina, elevada o normal, y el receptor soluble de la transferrina es normal. La concentración sérica de EPO suele estar elevada, pero no en el grado apropiado por la anemia. El aspirado medular muestra un patrón de bloqueo del hierro, con una disminución de sideroblastos y hierro macrofágico aumentado.

El diagnóstico, en ocasiones, no es fácil, y se realiza por exclusión, ya que la mayoría de pacientes afectados de enfermedades infecciosas o inflamatorias crónicas y neoplásicas, presentan una anemia multifactorial (ferropénica, hemolítica, por déficit nutricional, por insuficiencia renal, infiltración medular, etc.).

El diagnóstico diferencial con la anemia ferropénica puede ser difícil en algunas ocasiones. En estos casos, los valores bajos de ferritina, el aumento del receptor soluble de la transferrina y el examen de médula ósea ayudan al diagnóstico.

Tratamiento

La anemia es moderada y en la mayoría de los casos no precisa tratamiento. El control de la enfermedad subyacente suele mejorar la anemia en estos pacientes; están contraindicadas las transfusiones, salvo en los casos de anemia intensa. El tratamiento con eritropoyetina recombinante humana (r-HuEPO) puede estar indicado en pacientes sintomáticos o con anemia grave. La respuesta a la r-HuEPO se inicia a las 4-8 semanas, habiéndose descrito una mejoría de la calidad de vida y reducción de las necesidades transfusionales en el 40-80% de los pacientes[25,26].

La administración de hierro está contraindicada en la AEC, excepto si coexiste ferropenia.

ENFERMEDADES RENALES

Las enfermedades renales pueden cursar con diversas alteraciones hematológicas que abarcan desde la anemia que presentan muchos de los pacientes con insuficiencia renal crónica hasta la poliglobulia en el carcinoma renal, la disfunción leucocitaria y las alteraciones complejas de la hemostasia.

Anemia

La insuficiencia renal crónica (IRC) causa una anemia hiporregenerativa cuya gravedad es paralela al grado de insuficiencia renal. No existe ninguna relación entre la causa de la insuficiencia renal y la intensidad de la anemia, excepto en el caso de la enfermedad poliquística renal en que la anemia suele ser menos grave. El 90% de los pacientes sometidos a tratamiento de diálisis presentan anemia y, en el 25% de los casos, el grado de anemia es mayor (Hto < 0,25 L/L). El término «anemia de la IRC» se refiere, básicamente, a la que aparece por el fracaso de las funciones endocrinas del riñón, principalmente en la síntesis de EPO por las células intersticiales renales, siendo su déficit el principal responsable de la anemia de la IRC[27].

Etiopatogenia

La etiología de la anemia de la IRC es multifactorial (tabla 41.4), siendo la causa principal el déficit de producción de EPO, acompañada de otros factores como la disminución de la vida media eritrocitaria, la pérdida de hematíes y la disminución de la eritropoyesis secundaria a la producción de sustancias tóxicas urémicas. La EPO es una glucoproteína sintetizada en el hígado durante la época fetal y básicamente en el riñón en la edad adulta (85-90%). El principal estímulo para su producción es la hipoxia, desconociéndose el mecanismo exacto por el que ésta es capaz de inducir un aumento de la síntesis de EPO. En las enfermedades renales el daño producido en el parénquima renal causa un déficit de producción de EPO, hallándose las concentraciones de esta hormona en sangre muy por debajo de las necesarias para mantener una eritropoyesis normal[27,28].

La disminución de la vida media eritrocitaria es de tipo extracorpuscular, y está relacionada con la retención de productos urémicos y una especial susceptibilidad del hematíe a los agentes oxidantes. Durante el procedimiento de diálisis se puede producir hemólisis por la exposición a agentes oxidantes como la cloramina y los nitratos, por altas concentraciones de metales como el cobre y el cinc, o por otras sustancias como el formaldehído y el hipoclorito, utilizadas como desinfectantes. Otras causas de hemólisis en la diálisis pueden ser la excesiva temperatura o la sobrepresión en el circuito extracorpóreo.

La disminución de la eritropoyesis en la insuficiencia renal se produce también por la producción de sustancias tóxicas urémicas como la espermina, espermidina y la hormona paratiroidea (PTH). La PTH es capaz de inhibir la eritropoyesis al inhibir las unidades formadoras de colonias eritrocitarias (BFU-E) y, por otra parte, puede provocar un aumento de la fragilidad osmótica del hematíe y fibrosis de médula ósea.

La anemia de la IRC puede agravarse por múltiples causas. La ferropenia afecta al 50% de los pacientes sometidos a diálisis, y puede ser secundaria a pérdidas hemáticas, favorecidas por la heparinización que requiere la diálisis, las pérdidas por el tracto genitourinario o bien iatrógenas (flebotomías). El déficit de folato puede provocar una anemia macrocítica por aumento de la demanda secundaria a la hemólisis, por déficit de ingestión (dieta pobre en proteínas), pérdida de folatos en el procedimiento de diálisis o la alteración de su metabolismo por algunos fármacos (difenilhidantoína, barbitúricos, colestiramina, anticonceptivos orales, metotrexato, pirimetamina). La anemia hemolítica microangiopática puede ser secundaria a la hipertensión maligna, y a la administración de algunos fármacos antineoplásicos, inmunosupresores o inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina (IECA), y puede también potenciar la anemia de la IRC[27,28].

La intoxicación por aluminio puede provocar una anemia microcítica hipocroma sin déficit aparente de hierro en los pacientes sometidos a hemodiálisis con una excesiva exposición a este metal. Esta anemia se produce por un mecanismo de competición del aluminio con el hierro por la unión a la transferrina e incorporación a la síntesis del grupo hemo. Todos estos factores que pueden agravar la anemia de la IRC provocan una disminución de la respuesta o resistencia al tratamiento con eritropoyetina recombinante (r-HuEPO).

TABLA 41.4

Mecanismos de la anemia secundaria a insuficiencia renal

Déficit de eritropoyetina
Acortamiento de la vida media eritrocitaria
- Hemólisis asociada a diálisis
  - Fragmentación mecánica de hematíes
  - Toxicidad por exposición al cobre, la cloramina, el formaldehído o los nitratos
  - Deshidratación o hiperhidratación de hematíes
  - Recalentamiento de los hematíes
- Hemólisis asociada a fármacos
  - Fármacos de alto potencial oxidativo
  - α-metildopa, penicilina, quinidina
- Anemia hemolítica microangiopática
  - Hipertensión maligna
  - Vasculitis
- Hipofosforemia
  - Excesiva ingestión de antiácidos

Inhibidores de la eritropoyetina y poliaminas
Pérdidas hemáticas
- Iatrógenas (flebotomías)
- Por diálisis
- Gastrointestinales

Déficit de folato
- Aumento de demanda
- Restricción de la ingestión
- Pérdidas por diálisis
- Alteración de la absorción o metabolismo por fármacos: difenilhidantoína, barbitúricos, colestiramina, metotrexato, pirimetamina

Fibrosis de médula ósea
Intoxicación por aluminio
Hiperesplenismo
- Hepatitis crónica
- Hemosiderosis secundaria

Características clínicas

Al tratarse de una anemia de múltiple etiología, para su estudio es preciso un examen minucioso de la sangre periférica. Es una anemia normocítica y normocroma, con los valores séricos de sideremia, transferrina y ferritina frecuentemente normales.

Morfológicamente, los hematíes pueden presentar espículas (*burr-cells*) como un trastorno reversible al normalizarse el valor de urea. El aspirado medular es normal, y la biopsia ósea puede mostrar ocasionalmente un patrón de fibrosis medular secundario al hiperparatiroidismo. Con mucha frecuencia se puede observar microcitosis, con ferritina baja secundaria a pérdidas hemáticas. La presencia de macrocitosis puede ser secundaria al déficit de folato, y la presencia de reticulocitos y esferocitos evidencia la presencia de hemólisis tanto relacionada con la diálisis como con la utilización de fármacos con alto potencial oxidativo. La presencia de esquistocitos indica la presencia de una anemia microangiopática asociada, por hipertensión maligna, vasculitis o síndrome hemolítico urémico. La hipofosfatemia asociada con una excesiva utilización de antiácidos unidos a folatos (sales de aluminio) puede provocar una hemólisis secundaria.

Algunos pacientes afectados de IRC pueden presentar un hiperesplenismo secundario a la propia enfermedad o al tratamiento (hepatitis crónica, hemosiderosis), con una anemia secundaria al secuestro y destrucción de los hematíes en el bazo[27].

Tratamiento

La anemia contribuye de una forma importante a la sintomatología de los pacientes con insuficiencia renal. El tratamiento de elección en la anemia de la IRC es la eritropoyetina recombinante (r-HuEPO), que actúa mejorando la anemia y la calidad de vida del paciente renal, disminuye las alteraciones cardiovasculares y contribuye a mejorar las alteraciones de la coagulación secundarias a la uremia. Debido a la alta frecuencia de otros factores asociados a la anemia de la IRC es preciso valorar un adecuado soporte nutricional, controlar la eficacia de la diálisis, corregir o descartar la intoxicación por aluminio y, principalmente, corregir la ferropenia. La determinación de valores de ferritina sérica inferiores a 100 ng/mL, saturación de transferrina inferior al 20% o hemoglobina inferior a 100g/L en pacientes sometidos poco tiempo a diálisis, en ausencia de enfermedades inflamatorias crónicas, aconseja instaurar un tratamiento con hierro por vía oral o parenteral antes de iniciar la r-HuEPO. En pacientes sometidos a largos períodos de diálisis es aconsejable iniciar los suplementos de hierro cuando la concentración de ferritina es inferior a 200-300 ng/mL[28].

La r-HuEPO es el tratamiento de elección para la IRC desde el año 1989. Su administración produce aumento de la cifra de reticulocitos y hematocrito acompañado de disminución del requerimiento transfusional y mejoría en la calidad de vida de los pacientes con IRC.

La Guía Europea de tratamiento de la anemia en la IRC recomienda mantener hemoglobina superior a 110 g/L, y debe iniciarse el tratamiento con r-HuEPO cuando dicha cifra sea inferior. La dosis inicial es de 50-100 UI/kg tres veces por semana, por vía subcutánea o intravenosa, hasta conseguir un hematocrito de 36 L/L o hemoglobina de 120 g/L (aproximadamente, entre las 2-6 semanas); si existe respuesta se puede reducir la dosis en un 30-50%, pudiéndose administrar una, dos o tres veces por semana. El 97% de los pacientes responden al tratamiento, y en caso de respuesta inadecuada, es necesario descartar otras causas que pueden contribuir a su ineficacia (ferropenia, hemólisis, toxicidad por aluminio en la diálisis, déficit de ácido fólico o vitamina B_{12} y eritroblastopenia)[29].

El tratamiento es bien tolerado; pueden aparecer como efectos secundarios un cuadro seudogripal autolimitado, náuseas, edema, eritema cutáneo, hipercalcemia o conjuntivitis no infecciosa en algunos casos. El 35% de los pacientes presenta hipertensión durante el tratamiento, que se controla fácilmente con medicación hipotensora. Una pequeña proporción de pacientes (5%) puede desarrollar un cuadro grave de encefalopatía hipertensiva, que obliga a la supresión temporal de la r-HuEPO. Recientemente, se han descrito casos de eritroblastopenia asociada con la aparición de anticuerpos antieritropoyetina en pacientes con IRC tratados con r-HuEPO-alfa por vía subcutánea. Su incidencia es de 20 casos por cada 100.000 enfermos cada año, por lo que se ha contraindicado su indicación en la anemia de la IRC, y se recomienda utilizar r-HuEPO-beta o darbopoetina[30].

Las transfusiones de sangre deben reservarse únicamente para aquellos casos en los que se requiere una reposición inmediata de hematíes. La administración de anabolizantes androgénicos puede estimular la producción endógena de EPO, pero sus efectos secundarios limitan su prescripción en pacientes afectados de IRC[27].

Poliglobulia

En algunos pacientes afectados de IR se puede observar una poliglobulia secundaria. La poliglobulia se ha asociado a diversas enfermedades renales, como el hipernefroma, la enfermedad poliquística renal, la obstrucción ureteral y la estenosis de la arteria renal.

El 20% de los pacientes sometidos a trasplante renal pueden presentar una eritrocitosis secundaria a la corrección de la anemia, producida en parte por una excesiva secreción de EPO por el riñón nativo, debido probablemente a una disminución del flujo sanguíneo renal y a la hipoxia. La teofilina y el captopril pueden ser efectivos en el tratamiento de esta complicación, y el tratamiento con r-HuEPO antes del trasplante la puede prevenir en algunas ocasiones.

Alteraciones de la hemostasia

Los pacientes con IRC presentan con frecuencia alteraciones de la hemostasia de causa multifocal y compleja, destacando principalmente las anomalías en la función plaquetaria.

Plaquetas

En la IRC el recuento de plaquetas suele ser normal o ligeramente disminuido, pero existe un alargamiento del tiempo de sangría debido a una alteración de la adhesividad y agregación plaquetaria[27,31].

La etiopatogenia de la disfunción plaquetaria en la IRC es multifactorial y, en gran parte, debida al aumento de sustancias tóxicas de retención urémica (óxido nítrico, ácido fenólico, fenol, ácido guanidinosuccínico y sustancias de mediano peso molecular). Estas toxinas urémicas actuarían interfiriendo en la unión de la glucoproteína IIb-IIIa con el factor Von Willebrand o con el fibrinógeno, provocando una

alteración de la agregación y adhesión plaquetarias[32]. La expresión del receptor de la glucoproteína IIb-IIIa está reducida en la IR, y existe una correlación inversa con los valores de creatinina sérica. Se han descrito defectos cualitativos y cuantitativos del factor Von Willebrand plasmático y plaquetario, déficit de producción de tromboxano A_2 y aumento de la síntesis de prostaciclina (PGI_2) y óxido nítrico por parte del endotelio urémico, que actúan disminuyendo la agregación plaquetaria[31].

La adherencia de las plaquetas al subendotelio está disminuida, probablemente debido a las sustancias tóxicas liberadas en la IR, y el grado de anemia contribuye al defecto de adhesión plaquetaria, lo cual puede corregirse parcialmente con la administración de r-HuEPO.

Las manifestaciones clínicas más frecuentes son las equimosis espontáneas, epistaxis, pérdidas hemáticas por el tracto digestivo y menometrorragias. El 5% de los pacientes sometidos a diálisis puede presentar hemorragias graves (hematoma subdural o pericarditis hemorrágica).

El tratamiento consiste, en primer lugar, en una adecuada diálisis, que puede corregir parcialmente los defectos de la coagulación, y en el tratamiento de la anemia con r-HuEPO.

En casos de hemorragia activa que requiere una corrección rápida de los defectos de la coagulación o prevención de complicaciones hemorrágicas en cirugía programada, el tratamiento consiste en la administración de un análogo de la hormona antidiurética, la desmopresina (DDAVP), 0,3 µg/kg por vía intravenosa o subcutánea, o 3 µg/kg intranasal, que actúa aumentando la liberación endotelial de los multímeros de los factores VIII/Willebrand, con un pico de máxima actividad a las 2-4 horas y una duración de 6-8 horas[27,28,31]. La perfusión de crioprecipitado puede ser efectiva, corrigiéndose el defecto de función plaquetario durante 24-36 horas. La administración intravenosa de estrógenos conjugados (0,6 mg/kg/día) durante 5 días, o de estradiol transdérmico (50-100 ng, 2 veces al día) puede reducir significativamente el tiempo de sangría, con un máximo de acción al séptimo día y una duración de 20-30 días. Su mecanismo de acción probablemente está relacionado con la reducción de la producción de L-arginina y óxido nítrico[27].

Otras alteraciones de la coagulación

En la IRC se han descrito alteraciones de los factores de coagulación. Los valores de factor IX, XI y XII pueden descender, probablemente debido a la pérdida urinaria de proteínas. Los valores del factor II, V, VII, VIII, X y XII pueden estar elevados debido a un aumento secundario a la síntesis hepática, sin que exista relación con la presencia de fenómenos trombóticos.

Los complejos plasmina-antiplasmina (PAP), el fibrinógeno y los productos de degradación de la fibrina pueden estar aumentados en la IRC, con una activación de la fibrinólisis. La actividad anticoagulante de la proteína C, la proteína S y la antitrombina III puede estar disminuida[27,31].

Estas alteraciones de la coagulación y la fibrinólisis pueden corregirse parcialmente con la diálisis, y predisponen al paciente a sufrir fenómenos trombóticos.

ENDOCRINOPATÍAS

Las hormonas secretadas por las glándulas endocrinas pueden actuar directamente sobre la hematopoyesis o indirectamente a través de la regulación de la producción de factores de crecimiento. La patología del tiroides, las glándulas suprarrenales, la hipófisis y las gónadas puede ir asociada con alteraciones hematológicas, siendo la anemia la alteración más frecuente (tabla 41.5).

TABLA 41.5

Alteraciones hematológicas de las enfermedades tiroideas y suprarrenales

Enfermedades tiroideas
Hipotiroidismo
– Anemia normocítica/macrocítica
– Anemia microcítica
– Anemia macrocítica
– Disminución adhesión plaquetaria
– Trombocitopenia autoinmune
– Disminución factor VIII
– Disminución factor VII, IX y X
Hipertiroidismo
– Anemia microcítica
– Eritrocitosis moderada
– Trombocitopenia autoinmune
– Aumento factor VIII
Enfermedades suprarrenales
Insuficiencia suprarrenal
– Anemia normocítica
– Anemia macrocítica
Síndrome de Cushing
– Eritrocitosis
– Neutrofilia
– Eosinopenia
– Linfopenia

Tiroides

Hipotiroidismo

La anemia puede observarse en el 30-40% de los pacientes con hipotiroidismo, y es más frecuente en los hombres. Generalmente, es una anemia normocítica, normocroma o discretamente macrocítica. Su etiopatogenia no está clara y se halla relacionada probablemente con la acción de las hormonas tiroideas sobre la regulación de la síntesis de eritropoyetina[33].

En el 2-15% de los pacientes la anemia puede ser microcítica, y en estos casos es secundaria a pérdidas hemáticas (menorragias), a la existencia de una aclorhidria gástrica o a la presencia de una alteración en la absorción del hierro secundaria a la hipofunción tiroidea.

Una anemia macrocítica puede hallarse en el 8-14% de los pacientes afectados de mixedema, secundaria al déficit de vitamina B_{12} o de ácido fólico. La anemia perniciosa se presenta en el 10% de los casos, y es probablemente secundaria a un mecanismo inmune. Se asocia con frecuencia con tiroiditis, detectándose anticuerpos anticélulas parietales y antifactor intrínseco en el 32 y el 4%, respectivamente, de los casos de hipotiroidismo, y anticuerpos antitiroideos en el 55% de los pacientes con anemia perniciosa. En algunas ocasiones la anemia megaloblástica puede preceder al mixedema, estando generalmente relacionada con el grado de hipotiroidismo y su duración[33].

El VCM suele estar elevado incluso en ausencia de anemia, y en el 20% de casos la morfología de la sangre periférica puede mostrar acantocitos, habiéndose descrito también valores de hemoglobina A_2 bajos. Ocasionalmente, puede existir leucopenia y plaquetopenia moderadas, y el aspirado medular es ligeramente hipocelular.

La respuesta de la anemia del mixedema al tratamiento con hormona tiroidea es lento, normalizándose los parámetros hematológicos a los 6 meses.

En el hipotiroidismo se han descrito alteraciones funcionales de las plaquetas, con disminución de la adhesividad plaquetaria, valores bajos de factores VII, IX y X, aumento de la fibrinólisis y déficit del factor Von Willebrand adquirido. Tales alteraciones revierten con el tratamiento[34].

La tiroiditis de Hashimoto se asocia con fenómenos autoinmunes, presentándose ocasionalmente una plaquetopenia inmune.

Hipertiroidismo

En el hipertiroidismo suele haber un aumento de la eritropoyesis, debido al efecto directo de las hormonas tiroideas y a la estimulación de la producción de EPO por la hipoxia celular secundaria al aumento del metabolismo basal. Este incremento de la masa eritrocitaria tiene escasa repercusión sobre el hematocrito, debido al aumento del volumen plasmático coexistente. La vida media de los hematíes es normal o se halla ligeramente disminuida, y los estudios de ferrocinética han mostrado un aumento en el aclaramiento y recambio de hierro plasmático y en la incorporación del hierro a los hematíes.

Una tendencia a la microcitosis se puede observar en el 37% de los casos de hipertiroidismo junto con valores ligeramente elevados de hemoglobina A_2 y de 2,3-DPG[33].

El 10-25% de los pacientes puede presentar anemia ligera o moderada, normocítica o microcítica, con reticulocitos ligeramente disminuidos. La médula ósea es normal o hiperplásica, con trastorno de maduración de la serie roja y aumento de los depósitos de hierro. La etiopatogenia no es bien conocida, y podría atribuirse a una eritropoyesis ineficaz con trastorno en la incorporación intraeritrocitaria de hierro. El tratamiento antitiroideo resuelve la anemia en la mayoría de los casos[33].

El hipertiroidismo puede asociarse con fenómenos autoinmunes. La frecuencia de trombocitopenia en pacientes con enfermedad de Graves es del 3-14%, hallándose anticuerpos antiplaquetas en la mayoría de casos y, ocasionalmente, anticuerpos anticardiolipina. El tratamiento antitiroideo suele resolver la plaquetopenia inmune, sin embargo, en algunas ocasiones es necesario el tratamiento con corticoides. Los valores de factor VIII pueden estar ocasionalmente elevados y la actividad fibrinolítica, descendida[34].

Los fármacos antitiroideos, principalmente metimazol, carbimazol y propiltiouracilo, pueden producir como efecto secundario una leucopenia moderada, plaquetopenia y también agranulocitosis en el 0,5-1% de los pacientes tratados, que puede aparecer, incluso, varios meses después de iniciado el tratamiento[35].

Gónadas

Los andrógenos actúan sobre la eritropoyesis mediante el estímulo de la producción de eritropoyetina renal, y antes de la introducción de la r-HuEPO ya eran utilizados en el tratamiento de diversas anemias, como la aplasia medular. Después de la pubertad, los valores del hematocrito y de la hemoglobina son un 10-13% superiores en los hombres que en las mujeres, debido al estímulo de la eritropoyesis por los andrógenos. Por otra parte, los estrógenos pueden producir anemia, probablemente por la supresión de la síntesis hepática de eritropoyetina.

El hipogonadismo puede cursar con una anemia moderada que responde al tratamiento hormonal; sin embargo, en la mayoría de ocasiones debe descartarse como causa primaria una afección de la hipófisis (hipopituitarismo). En las mujeres el hipogonadismo no se asocia a alteraciones hematológicas específicas, si bien el tratamiento con estrógenos puede producir un aumento de adhesividad plaquetaria y factores II, VII, IX y X, con un descenso de antitrombina III, aumentando así el riesgo trombótico. En el síndrome de Klinefelter se ha descrito un aumento del riesgo trombótico con aumento de la agregación plaquetaria, disfibrinogenemia y aumento de los valores del inhibidor del activador del plasminógeno[36].

Suprarrenales

Los corticoides desempeñan un papel importante en la regulación de la hematopoyesis, estimulando el crecimiento de CFU-GM. En la enfermedad de Addison suele aparecer una anemia normocítica-normocroma, en ocasiones enmascarada por el descenso del volumen plasmático típico de esta enfermedad. Una correcta hidratación permite valorar el grado real de la anemia, que suele corregirse con la administración de corticoides. En algunos casos, puede aparecer eosinofilia o linfocitosis, y se ha descrito su asociación con la anemia perniciosa.

El síndrome de Cushing puede cursar, en el 50% de los casos, con poliglobulia, neutrofilia por aumento de la producción y movilización de neutrófilos, linfopenia y eosinopenia[36].

Hipófisis

El hipopituitarismo cursa frecuentemente con una anemia moderada, normocítica, normocroma. Su etiología, en parte, se debe al efecto sobre la función de otras glándulas endocrinas controladas por la hipófisis, provocando un hipotiroidismo secundario, hipogonadismo o insuficiencia adrenal, y a la acción de la hormona del crecimiento y la prolactina sobre la regulación de la eritropoyesis. Ocasionalmente, se ha descrito déficit aislado del factor IX o plaquetopenia inmune[36]. El panhipopituitarismo puede cursar, asimismo, con una llamativa pancitopenia arregenerativa, que debe diferenciarse de la aplasia medular idiopática.

El tratamiento con tiroxina, corticoides y hormona de crecimiento, corrige la anemia en la mayoría de los casos. En los casos de hipopituitarismo secundario a un craneofaringioma que no responde al tratamiento hormonal, la administración de r-HuEPO puede mejorar el grado de anemia.

Paratiroides

El hiperparatiroidismo primario puede cursar con anemia en el 3-20% de los casos. La anemia es normocítica normocroma, se presenta básicamente en los casos de hiperparatiroidismo grave con hipercalcemia, lesiones óseas y aumento de fosfatasas alcalinas, y suele resolverse con el tratamiento (paratiroi-

dectomía). La etiopatogenia no está clara, pudiendo estar relacionada con la disminución de progenitores eritropoyéticos. La mielofibrosis secundaria es un hallazgo relativamente frecuente, pero no se correlaciona con el grado de anemia[37].

En el hiperparatiroidismo secundario a la insuficiencia renal, la anemia es frecuente, siendo difícil diferenciar si es debida al déficit de EPO de la insuficiencia renal o al propio hiperparatiroidismo. En algunos casos, el tratamiento con vitamina D_3 puede mejorar la anemia y reducir el requerimiento de r-HuEPO.

HEPATOPATÍAS

Anemia

En la hepatopatía crónica es habitual hallar una pancitopenia atribuida principalmente al hiperesplenismo secundario. Sin embargo, la anemia en la hepatopatía suele ser multifactorial y manifestarse de diferentes maneras. La presencia de hiperesplenismo no presupone necesariamente un aumento palpable del tamaño del bazo, puede cursar con pancitopenia y se vincula especialmente a la alteración de la función hepática propiamente dicha.

En primer lugar, existe la denominada *anemia no complicada*, secundaria a hemodilución por hipervolemia existente en la hepatopatía, disminución de la vida media de los hematíes e insuficiencia medular.

El sangrado crónico secundario a la hipertensión portal puede producir ferropenia y, en casos de complicaciones prolongadas, se puede hallar un patrón de bloqueo medular.

El alcoholismo crónico es una de las causas más frecuentes de hepatopatía crónica en España. El alcohol y sus metabolitos producen alteraciones que afectan la hematopoyesis, la síntesis de factores de la coagulación y defectos en los lípidos de la membrana eritrocitaria. En primer lugar, la ingestión crónica de alcohol es la responsable de una inhibición de la médula ósea que se traduce por hipocelularidad, cambios megaloblásticos por efecto directo sobre la hematopoyesis y, en ocasiones, especialmente en casos de etilismo agudo, se observa anemia sideroblástica transitoria. En otras ocasiones de ingestión aguda se observa una vacuolización de los proeritroblastos, debida a una invaginación de la membrana celular, que es reversible si se suspende la ingestión enólica. Otra característica es la presencia de macrocitosis moderada en ausencia de folicopenia y sin reticulocitosis. Dicha macrocitosis es debida al aumento del diámetro medio celular y no al aumento del volumen celular medio[36].

La anemia hemolítica asociada con enfermedad hepática grave es una complicación poco frecuente pero progresiva, de mal pronóstico, y caracterizada por la presencia de un exceso de colesterol en la membrana de los hematíes. En la microscopia óptica se observa la presencia de acantocitos (*spur cells*), los cuales son destruidos en el bazo por falta de flexibilidad y deformación[38].

El llamado síndrome de Zieve, descrito en 1957 y vinculado a la ingestión enólica, consiste en la asociación de anemia hemolítica e ictericia con esteatosis hepática e hiperlipemia con hipercolesterolemia. Regresa al suprimir el alcohol.

La malnutrición y el abuso del alcohol son también la causa de anemia megaloblástica por folicopenia en los pacientes con hepatopatía crónica, indistinguible de otras causas de megaloblastosis.

En el llamado síndrome de Gilbert existe un déficit hepático de glucuroniltransferasa que condiciona la presencia de una discreta hiperbilirrubinemia no conjugada que no suele sobrepasar los 3 mg y que, en la mitad de los casos, cursa con un componente hemolítico evidenciable con el radiocromo. Es de herencia autosómica dominante y sin importancia clínica.

Leucocitos

La leucopenia observada en los pacientes con hepatopatía crónica se debe principalmente a la presencia de hiperesplenismo, aunque puede ser secundaria a un déficit de folatos y/o insuficiencia medular. La función fagocítica y bactericida de los neutrófilos se encuentra alterada en la cirrosis biliar primaria, en la hepatopatía alcohólica y en la hepatitis crónica activa[39]. En las enfermedades hepáticas inmunes también se ha descrito la presencia de anticuerpos anticitoplasma en los neutrófilos (ANCA) de tipo IgG_1, que se asocian con mayor frecuencia a enfermedades como la colangitis esclerosante y la hepatitis autoinmune[40].

Plaquetas

En los procesos hepatobiliares (hepatitis, cirrosis, hipertensión portal, neoplasias) se pueden hallar trastornos cuantitativos y cualitativos de las plaquetas. La trombocitopenia se asocia con hiperesplenismo, insuficiencia hepática aguda y CID. En algunos casos de cirrosis hepática se observa trombocitopenia grave asociada con hipoplasia megacariocítica y disminución de los valores séricos de trombopoyetina. En la hepatitis crónica C tratada con interferón puede hallarse trombocitopenia de causa central. Sin embargo, existen numerosos estudios en los cuales se ha hallado trombocitopenia asociada con hepatopatía viral, aguda o crónica, cirrosis biliar primaria y cirrosis enólica, de origen inmune[41].

Las alteraciones plaquetarias de tipo cualitativo observadas en la hepatopatía son complejas y reflejan un trastorno en la agregación y la adhesión. Por un lado, existe un defecto en la síntesis de tromboxano A_2, una señal de transmisión a través de la membrana celular defectuosa y alteraciones cuantitativas de la GPIb que condicionan una agregación anómala al difosfato de adenosina (ADP), epinefrina, colágeno, trombina y ristocetina. Por otro lado, en la insuficiencia hepática aguda se produce un exceso de adhesión, posiblemente debido a un aumento del factor Von Willebrand, alteraciones en los fosfolípidos de membrana y una activación plaquetaria incrementada.

En cuanto al tratamiento, se recomienda la transfusión de plaquetas en los pacientes que presentan cifras de plaquetas inferiores a 50×10^9/L y vayan a ser sometidos a una maniobra agresiva. La desmopresina (DDAVP) produce un aumento de la síntesis de factores VIII y factor de Von Willebrand. En la hepatopatía crónica su administración se asocia con una mejoría del tiempo de sangría, del tiempo de protrombina y del tiempo de tromboplastina parcial activado. En la insuficiencia hepática aguda, el papel de la DDAVP no está establecido, por existir ya un incremento intenso de dichos factores[42].

Hemostasia

La mayoría de los factores de la coagulación y del sistema fibrinolítico se sintetizan en el hígado, excepto el factor Von Willebrand. Por otro lado, los factores II, VII, IX, X, así como las proteínas S y C son vitamino-K-dependientes. El sistema

reticuloendotelial hepático es el encargado de eliminar los factores activados, los complejos de activación y los productos de degradación de la fibrina y del fibrinógeno.

En la hepatopatía aguda o crónica puede hallarse disminución de la síntesis de los factores de coagulación por lesión hepatocelular, producción anómala de factores vitamino-K-dependientes secundaria a desnutrición y malabsorción intestinal, disminución del aclaramiento de los factores activados circulantes e incremento de la fibrinólisis. En las hepatopatías graves o fulminantes se puede hallar, además, disminución de los factores: V, VII, VIII. Cuando se produce una disminución de factor VIII junto con hipofibrinogenemia, puede indicar la presencia de CID. La hipofibrinogenemia es debida a fibrinogenólisis o a CID secundaria, aunque a veces se produce disfibrinogenemia adquirida. Los valores de factor VIIIc están aumentados tanto en las alteraciones parenquimatosas como en la colestasis.

En la cirrosis hepática compensada, el tiempo de protrombina suele estar dentro de los límites normales o discretamente prolongado, y se observa una disminución de síntesis de factor VII. A medida que progresa la lesión hepatocelular, se produce una alteración de la síntesis de factores XII y XI, cininógenos de alto peso molecular y precalicreína, con prolongación del tiempo parcial de tromboplastina. Los valores de factor VIII se mantienen normales o aumentados, así como el fibrinógeno. Los inhibidores naturales de la coagulación, como la antitrombina III, la proteína C y la proteína S, pueden disminuir, aunque raramente se asocia con fenómenos trombóticos.

En la cirrosis biliar primaria y en la colangitis esclerosante puede existir un estado de hipercoagulabilidad[43]. Otras alteraciones descritas en la hepatopatía aguda se detallan en la tabla 41.6[42].

El tratamiento de los trastornos de la coagulación asociados a hepatopatía está dirigido a prevenir los accidentes hemorrágicos en estos pacientes. La transfusión de plasma y crioprecipitados ha sido prácticamente sustituida por la administración de factores purificados, debido al riesgo de transmisión de virus. La DDAVP produce, además de lo que se ha comentado en el apartado anterior, un aumento de los factores XI y XII[43]. Los antifibrinolíticos y la aprotinina han sido más utilizados en los pacientes sometidos a trasplante hepático, y su indicación en la hepatopatía crónica o aguda aún está en estudio[44].

Recientemente, se ha introducido el uso de factor VIIa recombinante (rFVIIa) para los procesos que cursan con trastornos hemostáticos y hemorragia secundaria. En las enfermedades hepáticas se ha utilizado en pacientes con varices esofágicas sangrantes, de forma profiláctica en la biopsia hepática laparoscópica, en el trasplante y en hepatectomías parciales. Si bien los resultados no son concluyentes, parece que la mayoría de los pacientes responden bien a dicho tratamiento, y la administración conjunta con plasma tendría un efecto sinérgico[45].

TABLA 41.6

Principales alteraciones de la coagulación en la insuficiencia hepática aguda

Plaquetas	↓ Número ↓ Agregación ↑ Adhesión
Factores de coagulación	
Factores II, V, VII, IX, X	↓ Concentración plasmática
Factores VIII y FVW	↑ Concentración plasmática
Fibrinógeno (I)	↓ Concentración plasmática Polimerización fibrina anómala
Inhibidores de coagulación	
Antitrombina-III, proteínas C y S	↓ Concentración plasmática
Sistema fibrinolítico	
Activador tisular del plasminógeno y PAI-1	↑ Concentración plasmática
Plasminógeno y α_2-antiplasmina	↓ Concentración plasmática
Coagulación intravascular diseminada	

EMBARAZO

Anemia

En el embarazo se observa una disminución de la hemoglobina hasta en el 40% de las mujeres de diferentes grupos sociales. Las causas principales son la anemia dilucional o fisiológica y la anemia deficitaria.

Anemia dilucional

Durante la gestación, se producen cambios fisiológicos secundarios a estímulos hormonales y a la aparición de comunicaciones vasculares placentarias que provocan un aumento del volumen plasmático que, en determinadas condiciones, llega a superar el 80% del volumen basal. Por otro lado, se produce un incremento de la masa globular que, en las mujeres que no toman hierro, es del 10 al 20%, y en las que sí lo toman, el aumento de dicha masa alcanza el 30% del basal, lo que supone entre 350-450 mL más de masa globular. Este fenómeno sería atribuido principalmente a una mayor síntesis de eritropoyetina. Sin embargo, en la primera mitad del embarazo se observa una reducción del hematocrito del 3-5%, por ser mayor la dilución que la producción de hematíes. En el último trimestre estos parámetros, prácticamente, se normalizan por disminución del volumen plasmático. Debido a estos cambios, que se producen durante todo el período gestacional, es difícil establecer el valor a partir del cual debe considerarse que una paciente se halla anémica. En 1989, el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC)[46] estableció unos valores de normalidad de los parámetros hemoperiféricos según la semana de gestación en la cual se hallaba una población de mujeres gestantes en tratamiento con hierro, que fueron revisados en 1998 (tabla 41.7)[47].

Anemia deficitaria

Anemia ferropénica

Los requerimientos normales de hierro en el embarazo son del 700 a 1.400 mg. De éstos, 500 mg son utilizados para expandir la masa globular materna, el crecimiento fetal y el placentario. El requerimiento diario es de unos 4 mg, y al final del embarazo puede ser de 6-8 mg/día. La absorción materna de hierro aumenta durante este período, pero depende de los depósitos, de la eritropoyesis y de la forma de

TABLA 41.7

Valores mínimos de hemoglobina y de hematocrito en mujeres gestantes

Semanas de gestación	Hb (g/L)	Hto (L/L)
12	110	0,33
16	106	0,32
20	105	0,32
24	105	0,32
28	107	0,32
32	110	0,33
36	114	0,34
40	119	0,36
Trimestre		
1.°	110	0,33
2.°	105	0,32
3.°	110	0,33

administración. La prevalencia de ferropenia en el embarazo es muy diferente según la población estudiada, y depende en gran parte del estado socioeconómico[48].

A pesar de existir una ferropenia materna, el hierro absorbido es transportado a través de la placenta hacia el feto para mantener un aporte adecuado y favorecer el crecimiento intrauterino. Al parecer, el déficit de hierro se ha relacionado con una mayor incidencia de partos prematuros. No se ha podido confirmar su relación con otras complicaciones, como el bajo peso o un incremento de la mortalidad perinatal.

Actualmente, se tiende a administrar de forma profiláctica suplementos de hierro en bajas dosis a todas las pacientes, en especial durante la segunda mitad del embarazo. La dosis recomendada es de 30-60 mg/día de hierro elemental, y cuando se detecta una ferropenia, dicha dosis se incrementa a 60-180 mg/día[47].

Anemia megaloblástica

La anemia megaloblástica durante el embarazo suele ser secundaria a déficit de folatos y, muy raramente, es debida a falta de vitamina B_{12}. El déficit de folatos aparece en un tercio de las pacientes, sobre todo si es un embarazo múltiple, por aumento en las necesidades metabólicas. En general, se requieren 400 µg de ácido fólico al día, que se utiliza para la actividad metabólica del feto y de la placenta, siendo transportados de forma activa a través de la placenta hacia el lado fetal. Como resultado, el feto utiliza los folatos que necesita para su desarrollo, en detrimento de la madre. La mayoría de las anemias megaloblásticas que aparecen en el embarazo se diagnostican en el tercer trimestre o en el período posparto, debido a que el déficit de ácido fólico se manifiesta clínicamente a las 20 semanas posteriores.

La falta de ácido fólico se asocia con embriopatías, en concreto, con defectos en el cierre del tubo neural, por lo que es habitual su administración con finalidad preventiva.

El déficit de vitamina B_{12} en el embarazo puede hallarse en pacientes con síndromes de malabsorción o en casos de dietas estrictamente vegetarianas. La dosis diaria de vitamina B_{12} recomendada es, aproximadamente, de 2,0 µg, que se incrementa durante el embarazo en 0,2 µg/día. Los valores requeridos para el desarrollo fetal son mínimos y, habitualmente, se hallan valores de vitamina B_{12} superiores en el niño que en la madre. Por ello, es excepcional que el déficit materno se asocie con un déficit fetal. Sin embargo, cuando esto ocurre, los neonatos presentan retraso en el desarrollo psicomotriz y ponderal, y anemia que se manifiesta a partir de los 6 meses de edad.

Durante el embarazo, los valores normales de ácido fólico sérico, eritrocitario y de vitamina B_{12} pueden estar alterados de forma fisiológica. Los valores de vitamina B_{12} pueden estar bajos pero, al parecer, no se trata de un verdadero déficit. Una vez se ha producido el parto, estos valores vuelven a la normalidad de forma espontánea. Por tanto, hay que tener cuidado en atribuir la anemia sólo al déficit de vitamina B_{12} y administrar también ácido fólico.

En ocasiones, la anemia ferropénica coexiste con el déficit de ácido fólico y/o vitamina B_{12}, y los parámetros hemoperiféricos, como VCM, CHCM y HCM no son orientativos. En estos casos ocurre que, al iniciar el tratamiento con hierro, no se produce la crisis reticulocitaria. Ante la sospecha de un patrón megaloblástico, hay que buscar la presencia de neutrófilos hipersegmentados en el frotis de sangre periférica y, si es necesario, megaloblastosis granulopoyética en el mielograma.

En cuanto al tratamiento del déficit de folatos, se recomienda la administración oral de 1 a 5 mg/día de ácido fólico, y para la vitamina B_{12} se administran 1.000 µg intramusculares por semana durante 2 meses, para pasar posteriormente a un inyectable mensual. En ambos casos, se produce una reticulocitosis a los 4 días y una corrección de la anemia en 4-6 semanas.

Como se ha comentado, la anemia megaloblástica en el embarazo se debe regularmente a déficit de ácido fólico debido al incremento de la demanda en el desarrollo fetal y placentario, por lo que las mujeres que por diferentes causas presentan una alta probabilidad de folicopenia (tabla 41.8) deberían ser tratadas de forma profiláctica con 1 mg/día. En general, se considera que 400 µg/día son suficientes para prevenir embriopatías secundarias[49].

TABLA 41.8

Causas de folicopenia en las gestantes

Bajo estado socioeconómico
Dieta pobre, alcohol
Multíparas
Período de lactancia prolongado
Hemólisis congénita
Historia de déficit de folatos en embarazos anteriores
Síndrome de malabsorción
Resección del intestino delgado proximal
Tratamiento con anticonvulsivantes

Plaquetas

La inclusión del recuento de la cifra de plaquetas en los analizadores automáticos ha supuesto un avance en el diagnóstico precoz de las enfermedades relacionadas con la hiperproducción o hipoproducción plaquetaria. En el embarazo, se han identificado alteraciones hasta en el 8% de casos[50].

Por otro lado, algunos autores reconocen un estado de activación plaquetaria, relacionada con aumento de la β-tromboglobulina y del factor 4 plaquetario, que aparecería al final del embarazo[51].

Trombocitopenia

Durante el embarazo, pueden presentarse trombocitopenias de diverso origen y mecanismo (tabla 41.9).

TABLA 41.9

Causas más frecuentes de trombocitopenia en el embarazo

Espúrea o seudotrombocitopenia
Gestacional
Autoinmune
Secundaria a hipertensión
Coagulación intravascular diseminada
Microangiopática
Por déficit de folatos
Congénitas (anomalía de May-Hegglin, macrotrombocitopenia hereditaria)

Trombocitopenia idiopática autoinmune (PTI)

Ya se ha tratado en el Capítulo 34 dedicado a las trombocitopenias.

Trombocitopenia incidental o gestacional

La trombocitopenia incidental o gestacional es difícil de diferenciar de las PTI, y para catalogarla como tal se requiere, en primer lugar, que la gestante no presente antecedentes de PTI. Se trata de una trombocitopenia, por lo general, moderada hasta el punto de que, cuanto más baja es la cifra de plaquetas con que cursa tanto menos probable es que se trate de la misma. El riesgo de trombocitopenia neonatal es muy bajo. Desde el punto de vista práctico, y a pesar de todo, cuando la cifra de plaquetas es inferior a 75×10^9/L es aconsejable sospechar que puede tratarse de una PTI. Téngase presente que, en el caso de que se tratara de una PTI, la cifra de plaquetas de la madre no se correlaciona con la del feto, y así, mujeres que están en remisión, pueden dar a luz niños trombocitopénicos con una incidencia de esta circunstancia que oscila entre el 15 y el 65%, aunque la mortalidad neonatal por trombocitopenia grave y hemorragia intracraneal tiene una incidencia muy baja (0,6%)[52,53].

Síndrome HELLP

En 1982, Weinstein[54] describió una variante de la preeclampsia denominada síndrome HELLP, cuyas iniciales definían un cuadro constituido por hemólisis, alteración de la función hepática y plaquetopenia. En ocasiones, dicho síndrome se manifiesta sólo de forma parcial, lo que disminuye la incidencia de complicaciones y la mortalidad. Se observa en mujeres de edad algo superior a la que suele producirse en la preeclampsia y que son multíparas.

El síndrome HELLP se comporta como una microangiopatía con afección del endotelio vascular y depósito de fibrina en la luz vascular. Se produce una destrucción de los hematíes con aparición de esquistocitos en sangre periférica y secreción plaquetaria y endotelial de sustancias vasoconstrictoras: serotonina, tromboxano A_2 y endotelina, respectivamente. El exceso de fibrina en la luz vascular es causa de que los sinusoides hepáticos se obstruyan y exista una lesión hepatocelular secundaria, que se traducirá clínicamente con dolor. Además, en las áreas periportales y parenquimatosas se deposita material hialino que puede provocar hemorragia hepática. En ocasiones, se observa infiltración grasa. El síndrome HELLP raramente se asocia con CID, y cuando lo hace, se detecta plaquetopenia que incrementa la propia del síndrome HELLP, junto con disminución no constante del fibrinógeno y aumento tampoco constante de los PDF. En algunas series dicha asociación llega a ser del 21%[55]. La disminución de la antitrombina III es muy expresiva de la presentación de CID cuando el fibrinógeno y los PDF son normales.

Esta entidad se presenta con mayor frecuencia en el tercer trimestre, aunque en más del 30% de los casos los síntomas se manifiestan a las pocas horas o en los primeros 6 días posparto. En el 75% de estos casos existe un diagnóstico de preeclampsia previo al parto.

Las manifestaciones clínicas son variables e inespecíficas. El 90% de las pacientes experimentan sensación de malestar con náuseas, vómitos y cefalea. En el 50-60% de casos aparece dolor abdominal, localizado en epigastrio o hipocondrio derecho, que puede ser irradiado a la región escapular. Este síntoma es debido a la presencia de hemorragia hepática, y marcará el pronóstico. Otros signos y síntomas posibles son la aparición de edemas en el 50% de casos, hipertensión arterial en el 60% de los casos, y proteinuria de mayor o menor intensidad[56], manifestaciones todas vinculadas a la preeclampsia, de la cual el síndrome HELLP es una variante.

En cuanto a las alteraciones de laboratorio, se hallará una plaquetopenia que es más intensa durante las primeras 24 horas después del parto, aumento de las enzimas hepáticas y de la LDH. Recientemente, se han descrito dos marcadores de afectación hepática en el síndrome HELLP que serían la glutatio *S*-transferasa-α-1-1 plasmática y el aumento del ácido hialurónico[56].

Las complicaciones secundarias son poco frecuentes, y aproximadamente el 50% de las pacientes diagnosticadas de HELLP no manifiestan las alteraciones de laboratorio descritas en la forma completa.

En cuanto al tratamiento, consiste en controlar la presión arterial, evitar la posibilidad de convulsiones y tratar las complicaciones. Si el tiempo de gestación es inferior a 32 semanas, pueden administrarse corticoides para acelerar la maduración fetal. La sospecha de hematoma hepático es una indicación de inducción al parto. Cuando se requiere mantener la gestación por más tiempo, puede intentarse la administración de expansores plasmáticos, antiagregantes plaquetarios, corticoides y transfusión o recambio plasmático.

Tanto en la preeclampsia, en general, como en el HELLP en particular, la incidencia de trombocitopenia neonatal es más baja que en la PTI.

Trombocitopenia por consumo

En la preeclampsia, la cifra de plaquetas disminuye de forma moderada, y en la fase inicial de la enfermedad puede preceder a los cambios hipertensivos e incluso a la activación de la coagulación[57]. Por este motivo, se ha indicado que la destruc-

ción plaquetaria estaría relacionada con la aparición de hipertensión. El diagnóstico de preeclampsia es clínico (presión arterial de, por lo menos, 140/90 mmHg y proteinuria superior a 0,3 g/24 horas); el tratamiento es la inducción del parto.

Se produce en 13-15 de cada 1.000 nacimientos (1-2% de todos los embarazos). La recuperación de la cifra de plaquetas se produce de forma progresiva en pocos días, y no repercute en la cifra plaquetaria del neonato.

La trombocitopenia asociada con el síndrome de microangiopatía trombótica (púrpura trombocitopénica trombótica y síndrome hemolítico urémico) raramente acontece en el embarazo o en el posparto (10-25% de las PTT) y debe diferenciarse de la trombocitopenia relacionada con la preeclampsia (que también puede cursar con microangiopatía y esquistocitosis) para poder establecer un tratamiento adecuado de forma inmediata y reducir, con ello, la elevada mortalidad. Su incidencia es aproximadamente de 1/25.000 nacimientos. En dichas entidades se produce una agregación plaquetaria intravascular anómala que afecta diferentes órganos. Tanto la PTT como el SHU aparecen con mayor frecuencia en el tercer trimestre o en el posparto, aunque la PTT también puede aparecer en el primer trimestre[51]. Las manifestaciones clínicas son diversas, pero destaca la presencia de equimosis y hematomas, astenia, fiebre, síntomas neurológicos, náuseas y vómitos. La hipertensión arterial existe hasta en el 75% de casos. El diagnóstico es puramente clínico y analítico. La presencia de plaquetopenia, anemia hemolítica no inmunológica con esquistocitos en el frotis de sangre periférica, el aumento de la LDH y de la bilirrubina total son los datos que confirman la microangiopatía. Debe controlarse la función renal de forma estricta, debido a la alta incidencia de insuficiencia renal que, en algunas series, alcanza el 67%. Las pruebas de coagulación son normales. Sin embargo, puede haber un discreto aumento de los productos de degradación del fibrinógeno relacionado con el embarazo, que obligará a descartar una coagulación intravascular diseminada. El diagnóstico diferencial con la preeclampsia puede ser difícil, pero la anemia con esquistocitos y la valoración conjunta del contexto sintomático ayuda a diferenciar la microangiopatía trombótica del HELLP (tabla 41.10)[58]. La posible inducción del parto no afecta el curso de la enfermedad hematológica, pero permite realizar el tratamiento específico de la enfermedad. El inicio, de forma inmediata, de la perfusión de plasma y la plasmaféresis han contribuido a la mejoría en la morbilidad y mortalidad. La administración de corticoides, la transfusión de hematíes y la hemodiálisis, en el caso del SHU, se consideran tratamientos de soporte. La transfusión de plaquetas sólo está indicada en casos de hemorragia grave. La mortalidad fetal relacionada con una microangiopatía materna puede llegar al 30%, y está directamente relacionada con un parto pretérmino por complicaciones maternas. En los casos en los que se ha realizado un seguimiento a largo plazo de las pacientes con microangiopatía trombótica durante o después del embarazo, se ha observado una alta incidencia de recaídas y otras complicaciones crónicas secundarias al primer episodio[59].

TABLA 41.10

Comparación de las características clínicas y de laboratorio entre PTT, SHU y preeclampsia/síndrome HELLP

	PTT	SHU	PE/HELLP
Síntomas neurológicos	+++	+/–	+/–
Fiebre	++	+/–	–
Hipertensión	+/–	+/–	+/–
Alteración renal	+/–	+++	+/–
Púrpura	+	–	–
Plaquetas	↓↓↓	↓↓	↓
TP, TTP	↔	↔	↔ o ↓
Fibrinógeno	↔	↔	↔ o ↓
BUN/creatinina	↑	↑↑↑	↑
AST/ALT	↔	↔	↑
LDH	↑↑↑	↑↑↑	↑
Formas multiméricas de FVW	+	+	–

–: ausencia de síntomas; +/–: síntomas leves o ausentes; +: síntomas leves; ++: síntomas moderados; +++: síntomas intensos; ↓: disminución leve; ↓↓: disminución moderada; ↓↓↓: disminución intensa; ↑: aumento leve; ↑↑↑: gran aumento; ↔: sin cambios; PE: preeclampsia; PTT: púrpura trombótica trombocitopénica; SHU: síndrome hemolítico urémico.

Hemostasia

Cambios fisiológicos

A medida que transcurre el período gestacional, así como en el posparto, se produce una serie de alteraciones hemostáticas que, por los resultados analíticos, se asemejan a una coagulopatía intravascular compensada[51]. Estos cambios afectan tanto las vías intrínseca y extrínseca como el sistema fibrinolítico. Se produce un aumento del fibrinógeno, del factor VII y del factor X, que se mantienen de forma prolongada. De la misma manera, existe un incremento del factor VIII, del antígeno del FVIII y del factor Von Willebrand, con concentraciones máximas en el tercer trimestre. Los fragmentos 1 y 2 de la protrombina aumentan de forma progresiva durante la gestación, y son los principales responsables del estado de hipercoagulabilidad que se produce[60]. Los factores II y V no se modifican. En cambio, se observa una disminución de los factores XI y XIII. La detección de PDF indica la formación de fibrina intravascular. Un aumento del dímero-D se detecta en el 60% de los embarazos hacia las 23 semanas de gestación.

Los inhibidores fisiológicos de la coagulación, como la antitrombina III y las proteínas C y S, mantienen una actividad discretamente disminuida. Algunos autores han demostrado una disminución de la proteína S del 60% respecto a un grupo control a partir de la semana 10 gestacional[60]. El sistema fibrinolítico no presenta alteraciones funcionales destacables, pero se caracteriza por un aumento del activador tisular del plasminógeno (t-PA) y de sus inhibidores (PAI-1, PAI-2), y los valores de plasminógeno y α_2-antiplasmina se mantienen.

CID

La causa principal de la aparición de coagulopatía intravascular diseminada durante el embarazo es la placenta previa. Otras patologías que pueden asociarse a dicha patología son el embolismo de líquido amniótico y, más raramente, una sepsis periparto secundaria a corioamnionitis.

La CID se manifiesta clínicamente y, a veces, es difícil su diagnóstico a partir de los parámetros básicos de la coagulación. Existe una serie de parámetros analíticos más sensibles: complejo ATIII-trombina, fragmentos 1+2 de la protrombina, que son marcadores de activación de la coagulación, PDF (fibrinopéptido A y dímero-D), así como el complejo inhibidor del activador del plasminógeno, marcador de fibrinólisis reactiva[51,57].

Síndrome antifosfolípido

El síndrome antifosfolípido se caracteriza por trombosis venosas y arteriales recurrentes, abortos de repetición y plaquetopenia, junto con la presencia de anticuerpos anticardiolipina (generalmente, IgG) y/o anticoagulante lúpico. En las pacientes embarazadas que presentan este síndrome, el objetivo principal es mantener el feto a término y evitar complicaciones como preeclampsia, prematuridad, retraso del crecimiento intrauterino y distrés fetal. El tratamiento electivo es la heparina, tanto la de bajo peso molecular como la no fraccionada, pero requiere un buen control analítico y de dosificación para ajustar la dosis necesaria, debido a las alteraciones del TTP en el embarazo y en presencia de anticoagulante lúpico. Otra posibilidad es la administración mensual de inmunoglobulina intravenosa[61] asociada en dosis bajas de AAS y heparina profiláctica. En algunos casos, se administra con corticoides y, al parecer, existe una menor incidencia de muertes fetales, aunque no hay que olvidar la morbilidad materna secundaria[23].

INFECCIONES

En las infecciones virales, bacterianas, fúngicas y parasitarias se pueden hallar alteraciones hematológicas causadas por la liberación de toxinas, por procesos inmunológicos, por secuestro esplénico o por afectación directa de la hematopoyesis. En estos casos, habitualmente, se hallan citopenias que afectan una o más líneas celulares. Un ejemplo que cursa con todo el abanico de posibilidades es la infección por VIH. En otras ocasiones, se halla un aumento en la cifra de leucocitos y/o de plaquetas formando parte del proceso reactivo frente a la infección. En cualquier caso, la alteración hematológica es un signo más de todo el cortejo de signos y síntomas que pueden asociarse con el proceso infeccioso, pero en ocasiones, existen datos cuantitativos y cualitativos que permiten establecer un diagnóstico diferencial y orientativo del cuadro.

Virus

Alteraciones hematológicas en la infección por VIH

Anemia en la infección por VIH

La anemia incide en el 63-95% de los pacientes, es más frecuente en fases avanzadas de la enfermedad y se relaciona con peor pronóstico y mayor mortalidad[62], independientemente de la cifra de CD4 y de la carga viral.

TABLA 41.11

Mecanismos de anemia en la infección por VIH[62]

Infección de médula ósea por VIH
Disminución en la producción de EPO
Infección de las células progenitoras y de la estroma
Factores inhibidores
Anemia hemolítica
Destrucción inmune de los hematíes
Microangiopatía trombótica
Síndrome hemofagocítico
Déficit de vitamina B_{12}
Disminución de la secreción de factor intrínseco
Enteropatía por infección por VIH
Infecciones intestinales
Déficit de ácido fólico
Enteropatía por infección por VIH
Infecciones intestinales
Fármacos: cotrimoxazol, pirimetamina
Déficit de hierro
Disminución del aporte dietético
Reducción de la absorción intestinal
Hemorragias
Fármacos
Zidovudina, ddC, d4T, ribavirina, foscarnet, ácido retinoico, otros
Infecciones de la médula ósea
Citomegalovirus, parvovirus B19, *Mycobacterium avium, Mycobacterium tuberculosis, Pneumocystis carinii, Histoplasma capsulatum, Criptococcus neoformans, Leishmania donovani*

Anemia de los trastornos crónicos

Aunque las causas suelen ser múltiples[63,64] (tabla 41.11), la más frecuente es la anemia de los procesos crónicos. En ella se produce una liberación de citocinas inhibidoras de la hematopoyesis, como el factor transformante de crecimiento β (TGF-β), el TNF-α y la IL-1.

Cursa habitualmente con ferritina sérica elevada, sideremia baja y transferrina disminuida. Suele ser normocítica normocroma, y existe reticulocitopenia. En la médula ósea existe un aumento general de los depósitos de hierro. En cultivos celulares se ha detectado que las células infectadas por VIH tienen una producción de EPO disminuida, posiblemente por inhibición de su síntesis por las citocinas (TNF, IL-1)[65].

Anemia asociada a fármacos

La zidovudina (AZT) actúa inhibiendo la transcriptasa inversa y, al mismo tiempo, impide la síntesis de DNA en las células progenitoras de la médula ósea, debido a que es un análogo de la timidina e impide la incorporación de bases pirimidínicas en el DNA. Todo ello produce una anemia macrocítica no carencial. Dicha alteración suele aparecer a las dos semanas del inicio del tratamiento. En el 5-48% de los pacientes la anemia es grave, está relacionada con la dosis de AZT administrada y hasta el 24% de los pacientes requerirán transfusión. La zalcitabina (ddC) también produce una anemia macrocítica arregenerativa, con alteraciones graves de la médula ósea. El d4T puede desarrollar anemia grave en el 14% de los pacientes. Con la ribavirina se han descrito casos de anemia hemolítica.

Los inhibidores de las proteasas (saquinavir, ritonavir, indinavir y nelfinavir) y los inhibidores no nucleósidos de la

transcriptasa inversa (nevirapina y delaviridina) no tienen, prácticamente, toxicidad hematológica.

Anemia asociada a otros fármacos

Otros fármacos utilizados en las posibles complicaciones infecciosas secundarias pueden producir anemia por diferentes mecanismos. El ganciclovir puede producir mielosupresión y pancitopenia. La trimetroprima interfiere con el metabolismo de los folatos en las células eritroides, y el sulfametoxazol, la dapsona y la primaquina pueden desencadenar una crisis hemolítica en pacientes con déficit de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa[64].

Anemia por infección secundaria de la médula ósea[66]

Entre los diversos microorganismos que pueden infiltrar la médula ósea y producir anemia, en nuestro medio, destacan las micobacterias [*Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium intracellulare* (MAI)] y *Leishmania donovanii*. Otros agentes identificados han sido *Pneumocystis carinii*, *Histoplasma capsulatum*, *Criptococcus neoformans* y citomegalovirus.

El parvovirus B19 puede producir anemia grave y crónica en pacientes con VIH por afección y lisis de las células progenitoras eritroides, con eritroblastopenia y la demostración de proeritroblastos gigantes en la médula ósea. Si se establece el diagnóstico, mediante técnicas de hibridación o PCR, el tratamiento consistirá en la administración de inmunoglobulinas IV, 400 mg/kg/día durante 5 días, para restablecer los anticuerpos capaces de eliminar la infección. Al mismo tiempo, el tratamiento con TARGA puede restablecer la inmunidad humoral y conseguir una eliminación de la infección.

La rentabilidad diagnóstica de un estudio medular (tabla 41.12) es sólo del 25-45%, en pacientes con VIH con fiebre prolongada, si se consideran los datos citológicos y microbiológicos conjuntamente[63]; en la infección por micobacterias este porcentaje se reduce al 10%.

Anemia hemolítica

Si bien se puede detectar un test de Coombs directo positivo hasta en el 40% de los pacientes, la mayoría no presenta datos analíticos de hemólisis. Incluso en los casos en los que se produce una hemólisis, la cifra de reticulocitos puede ser normal o estar disminuida por alteración de la hematopoyesis. Se han detectado anticuerpos de tipo frío, pero también de tipo caliente.

En cuanto al tratamiento, se administrarán corticoides, inmunoglobulinas IV, se retirarán los fármacos con posible efecto hemolítico (indinavir, ceftriaxona), o se efectuará una esplenectomía. En situaciones extremas, se ha llegado a transfundir concentrados de hematíes. En estas condiciones, la transfusión conlleva riesgo de tromboembolismo pulmonar secundario por aumento de la hemólisis y CID.

Anemias carenciales

Anemia por déficit de vitamina B_{12} y ácido fólico

Es poco frecuente y su aparición estaría relacionada con trastornos de la absorción intestinal, tratamiento con zidovudina y trimetroprima. Por ello, habitualmente se administra ácido fólico de forma profiláctica.

Anemia por déficit de hierro

La incidencia es muy variable y se debería a alteraciones de la absorción o a hemorragias intestinales. En un estudio reciente se halló ferropenia en el 18% de los pacientes. El aumento de los valores del receptor soluble de la transferrina fue un método sensible, pero poco específico. Sin embargo, la saturación de la transferrina disminuida (< 20%), la determinación de la protoporfirina cinc y el porcentaje de hematíes hipocrómicos fueron los valores con más sensibilidad y especificidad para el diagnóstico del déficit de hierro[67].

En los pacientes con anemia secundaria a afección de la médula ósea por infección VIH se ha observado que el uso de EPO rHu puede aumentar los niveles de hemoglobina, disminuir las necesidades transfusionales y mejorar la calidad de vida[68].

TABLA 41.12

Frecuencia de alteraciones morfológicas en 50 exámenes consecutivos de médula ósea en pacientes infectados por VIH en estadios avanzados[63]

Alteraciones morfológicas	Porcentaje (%)
Hipercelularidad	33
Hipocelularidad	4
Diseritropoyesis	46
Disgranulopoyesis	
Metamielocitos gigantes con restos nucleares	20
Metamielocitos gigantes sin restos nucleares	20
Restos nucleares sin metamielocitos gigantes	4
Otra disgranulopoyesis aislada	6
Disgranulopoyesis de algún tipo	50
Anormalidades en los megacariocitos	
Dismegacariopoyesis	36
Incremento de megacariocitos multinucleados	46
Megacariocitos agregados	25
Anomalías en los megacariocitos de algún tipo	58
Agregados linfoides	16
Células plasmáticas > 5%	24
Eosinofilia > 5%	10
Incremento de macrófagos	24
Granulomas	4
Degeneración gelatinosa	34
Incremento de reticulina	46

Neutropenia asociada a la infección por VIH

La neutropenia se detecta en el 3% de los pacientes asintomáticos y en el 20-50% de los sintomáticos.

Puede ser de causa central por alteración de la granulopoyesis por el propio virus, y suele ir acompañada de alteraciones displásicas, como hiposegmentación o bilobulación. Otras posibles etiologías son la infiltración medular por infecciones secundarias, neoplasias o mielotoxicidad farmacológica.

Entre las causas periféricas se incluyen las alteraciones inmunológicas, el hiperesplenismo secundario a infección, hemofagocitosis o por hepatopatía crónica.

Si la neutropenia es grave y el paciente presenta un síndrome febril, se debe iniciar tratamiento antibiótico empírico y considerarse el uso de factores estimulantes de colonias gra-

nulopoyéticas, así como la administración de TARGA en los pacientes que no lo recibían.

En la tabla 41.13 se relacionan las principales causas de neutropenia en la infección por VIH[69].

TABLA 41.13

Mecanismos de neutropenia en la infección por VIH[69]

Daño directo del VIH sobre la médula ósea
- Infección de células progenitoras
- Infección de células de la estroma
- Citocinas: INF-α, INF-β, TNF-α, TNF-β, IL-1, IL-2

Anticuerpos antineutrófilo
- IgG, IgM

Fármacos
- Antirretrovirales: zidovudina
- Antimicrobianos: TXP-SMZ, sulfadiacina, cloranfenicol, vancomicina, pirimetamina, anfotericina B, ganciclovir
- Antineoplásicos: adriamicina, vinblastina, etopósido, INF-α, ácido retinoico

Infecciones
- Micobacterias, *Leishmania, Criptococcus, Histoplasma capsulatum*, parvovirus B19, VHB, VHC, CMV

Déficit de vitamina B_{12} y ácido fólico
- Déficit FI, enteropatía asociada a VIH, infecciones intestinales, fármacos

Hiperesplenismo
- Infecciones, hepatopatías, linfomas

Síndrome hemofagocítico

Trombocitopenia en la infección por VIH

La trombocitopenia es frecuente en la infección por VIH. El 5-10% de los portadores asintomáticos presentan cifras inferiores a 150×10^9/L, frecuencia que aumenta en los pacientes con sida, en los cuales llega a ser del 25-45%.

Es más frecuente en los varones, y se asocia con altos niveles de anticuerpos antiplaquetarios. La diátesis hemorrágica aparece sólo con cifras de plaquetas muy bajas.

El tratamiento debe reservarse para los pacientes cuya cifra de plaquetas sea inferior a 30×10^9/L y/o con clínica hemorrágica. Cerca del 18% de los pacientes pueden tener una remisión espontánea, y la administración de TARGA puede resultar eficaz. En los pacientes que requieren tratamiento, el uso de prednisona (1 mg/kg/día) aumenta la cifra de plaquetas en la mayoría de los casos. La administración de inmunoglobulinas IV produce una respuesta rápida y transitoria en el 70-100% de casos. La esplenectomía suele ir seguida de un alto porcentaje de respuestas, y no sería un factor de progresión de la infección a sida[70].

La presentación clínica de microangiopatía trombótica, que incluye el síndrome hemolítico urémico y la púrpura trombótica trombocitopénica, no difiere de la que se observa en otras situaciones. El tratamiento inicial debe basarse en la plasmaféresis, pero en las recaídas debe utilizarse vincristina y zidovudina para intentar mantener la remisión sostenida. En una serie de 18 pacientes con PTT y VIH la plasmaféresis produjo remisión clínica en la mayoría, si bien un tercio murió antes de iniciar el tratamiento.

Alteraciones en la hemostasia

Los pacientes VIH pueden presentar trastornos hemorrágicos y trombóticos. La incidencia de fenómenos trombóticos es baja (2%) y está relacionada con la edad (> 45 años), estadio avanzado de la infección, presencia de infección por CMV u otras infecciones oportunistas definitorias de sida, encamamiento prolongado o terapia con indinavir. La administración de acetato de megestrol u otros agentes progestacionales puede provocar una resistencia adquirida a la proteína C activada.

Se han descrito disminuciones en los valores de antitrombina III, relacionadas con pérdidas urinarias por nefropatía, de proteína S libre, proteína C y cofactor II de la heparina.

La presencia de anticoagulante lúpico es variable, y los anticuerpos anticardiolipina se hallan en el 46-90% de los pacientes, sin que exista una clara relación entre dichos anticuerpos y los fenómenos tromboembólicos.

Otras infecciones víricas

Anemia

La anemia secundaria a una infección viral puede ser transitoria y aislada, o asociarse a otras citopenias por afectación de la hematopoyesis. Entre las infecciones virales más relacionadas con alteraciones de la eritropoyesis y anemias hemolíticas, destacan las producidas por citomegalovirus, parvovirus B19 y virus de Epstein-Barr (VEB).

ANEMIA HEMOLÍTICA

La anemia hemolítica de causa viral suele ser autoinmune, por crioaglutininas, y provoca una hemólisis intravascular. Entre los agentes responsables se cuenta el VEB, cuya crioaglutinina va dirigida contra el antígeno «i» del hematíe. Otros virus relacionados con la enfermedad de las crioaglutininas frías son el virus de la parotiditis, el de la rubéola y el citomegalovirus. Este último suele producir anemia hemolítica en pacientes inmunocomprometidos, pero también se ha descrito en individuos sanos[71].

La aparición de anticuerpos de tipo IgG contra el sistema P de los hematíes que actúan a baja temperatura (Donath-Landsteiner) se describe clásicamente asociada con sífilis congénita y secundaria, pero también puede aparecer relacionada con el sarampión, la varicela, la mononucleosis infecciosa, la parotiditis y la infección por parvovirus B19.

Los pacientes con déficit de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa pueden presentar una crisis hemolítica aguda relacionada con el virus de la influenza A y hepatitis virales.

ANEMIA HIPOPLÁSICA. ERITROBLASTOPENIA

La infección causada por el parvovirus B19, el único parvovirus patógeno para el ser humano, puede manifestarse de diferentes maneras, según la edad y el estado inmunológico y hematológico del individuo. En adultos sanos, la infección suele pasar inadvertida o bien producir un *rash* exantemático asociado o no a artropatía. Los pacientes con anemias hemolíticas crónicas o inmunosupresión pueden sufrir crisis aplásicas con pancitopenia o una eritroblastopenia selectiva. La infección intrauterina provoca *hydrops fetalis* y la muerte fetal.

Una vez el individuo se halla infectado por el virus, éste tiene un gran tropismo por la médula ósea, y se replica en las células precursoras eritroides mediante un receptor celular situado en el sistema P. La replicación viral intracelular provoca una supresión de la eritropoyesis que, en condiciones normales, dura una semana aproximadamente, y que se tra-

duce por una crisis hipoaplásica autolimitada. El sistema inmunológico humoral es el responsable de eliminar la infección, detectándose anticuerpos IgG en la fase precoz de la enfermedad. En los pacientes con alteración del sistema inmunológico se produce una infección persistente, con supresión crónica de la eritropoyesis y anemia crónica. El diagnóstico de infección por parvovirus B19 se basa en el examen de la médula ósea y en la presencia de anticuerpos específicos de tipo IgM y/o la detección del DNA en suero mediante PCR. La presencia de proeritroblastos gigantes, junto con algún eritroblasto más maduro, con degeneración nuclear eosinofílica y condensación periférica de la cromatina, que probablemente representa la inclusión viral intranuclear que se advierte con el microscopio óptico (fig. 41.1), son muy indicativas de infección por parvovirus. En los cortes histológicos de médula ósea fijados con formol se advierten las inclusiones virales como una inclusión intranuclear de aspecto esmerilado, con un aclaramiento central[72].

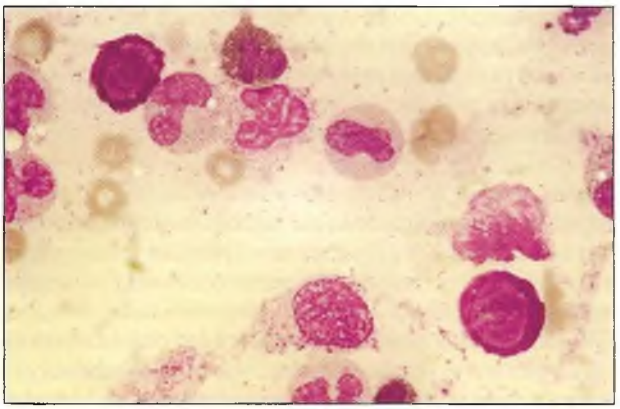


Figura 41.1. Eritroblastopenia por infección por parvovirus B19. Se observan dos proeritroblastos gigantes con degeneración eosinofílica y condensación periférica de la cromatina (May-Grünwald-Giemsa, × 1.000). Por cortesía de F. Millá.

La aplasia medular asociada con hepatitis es rara, representa el 2,5% de todas las aplasias y se observa en el 0,1 al 0,2% de las hepatitis infecciosas; el pronóstico es muy grave, debido a su alto índice de mortalidad, independientemente de la gravedad de la hepatitis[73]. Se produce con mayor frecuencia en varones jóvenes con un cuadro de hepatitis moderada que, durante la evolución, presentan una aplasia medular grave e intensa. Aunque se ha buscado una relación con los virus A, B y C de la hepatitis, la mayoría de ellas son debidas a un virus no identificado[74]. En algunos casos, se ha demostrado una serología positiva para el virus de la hepatitis G, el cual se transmitiría principalmente a través de las transfusiones. La aparición de una aplasia medular se produciría como un fenómeno inmunológico, y el tratamiento de elección sería el alotrasplante en pacientes con donante histocompatible o el tratamiento inmunosupresor con globulina antitimocítica o ciclosporina A.

Plaquetas

Las infecciones virales pueden producir una trombocitopenia, generalmente de causa autoinmune y que raramente provoca complicaciones hemorrágicas. Del mismo modo, dos terceras partes de los niños con PTI presentan una historia previa de infección viral[75]. En la infección aguda por el VEB se observa una disminución moderada de la cifra de plaquetas sólo en el 1-3,5% de casos, cuya recuperación puede tardar unos 2 meses[75]. La infección crónica por el virus de la hepatitis C puede provocar plaquetopenia inmune hasta en el 41% de los pacientes.

Otros virus relacionados con plaquetopenia son el parvovirus B19, el cual puede ser la causa de PTI hasta en el 13% de los niños, el citomegalovirus y el VIH.

Hemostasia

La gran mayoría de las virasis no se asocian con alteraciones significativas de la hemostasia, pero en situaciones de extrema gravedad puede observarse CID secundaria, posiblemente por lesión vascular directa, el cual produce una liberación de factor tisular. Esta situación se observa, principalmente, en neonatos y niños afectados por el virus del herpes simple, el citomegalovirus o la rubéola[76]. Otro cuadro que cursa con CID es el síndrome hemofagocítico asociado con infección[77]. En cambio, en la hepatitis fulminante, se produce una alteración de la hemostasia por disminución de la síntesis de factores de la coagulación secundaria a lesión hepatocelular. La púrpura trombocitopénica trombótica y el síndrome hemolítico urémico pueden estar desencadenados por una infección viral.

La infección por citomegalovirus y VIH puede producir una vasculitis que afecte la mucosa del tracto gastrointestinal, provocando colitis, y afectación del SNC en forma de infartos cerebrales; en la piel se manifiesta con petequias, púrpura, úlceras o bien una erupción difusa maculopapular[76].

Infecciones por bacterias, hongos y parásitos

Anemia

La anemia relacionada con infecciones por bacterias, hongos y parásitos puede ser debida a distintas causas. El sangrado crónico gastroduodenal debido a la infección por *Helicobacter pylori* es una de las principales causas de anemia ferropénica, pero también puede existir anemia en la enteritis por *Shigella* o fiebre tifoidea, o en la infestación gastrointestinal por anquilostomiasis. La presencia de granulomas tuberculosos o por histoplasmosis, o la necrosis medular por infecciones graves bacterianas, brucelosis o por *Salmonella typhi* son causas de aplasia medular. La anemia por bloqueo medular, resultante de una infección crónica, puede aparecer en el caso de endocarditis bacterianas o fúngicas, meningitis, empiemas, TBC o aspergilosis pulmonares cavitadas y osteomielitis, entre otras[78].

La anemia hemolítica por parasitación eritrocitaria aparece en la malaria, la babesiosis, relacionada con la inmunodepresión y la bartonelosis. La anemia crónica con esplenomegalia secundaria a la infección por *Plasmodium* se denomina *síndrome de esplenomegalia tropical* o *esplenomegalia malárica hiperreactiva* (EMH). Este síndrome está constituido clínicamente por esplenomegalia gigante y pancitopenia con anemia intensa, a veces asociada a linfocitosis en sangre periférica y medular. Se atribuye a una respuesta inmunológica frente al plasmodio, que implica una producción de anticuerpos IgM y la formación de complejos Ag-Ac. La fagocitosis de estos complejos por el bazo condiciona una esplenomegalia progresiva y la activación del complemento. Todo ello da lugar a la aparición de anemia, leucopenia y plaque-

topenia y, en ocasiones, a crisis hemolíticas graves. Los criterios para el diagnóstico de EMH son: esplenomegalia masiva (> 10 cm), presencia de inmunidad malárica (presencia de anticuerpos antimalaria IgG e IgM), ausencia de parasitemia aguda (gota gruesa negativa), valores séricos de IgM superiores a dos desviaciones estándar, linfocitosis sinusoidal en la biopsia hepática y buena respuesta al tratamiento[79]. El tratamiento consiste en la administración de antipalúdicos (proguanil, 100 mg/día) y en la administración adicional de corticoides en las crisis agudas con eritrofagocitosis esplénica. Algunos estudios indican que la presencia de linfocitosis con reordenamiento clonal del gen de las inmunoglobulinas se asocia con una menor respuesta frente a los antipalúdicos y a una posible evolución a un síndrome linfoproliferativo crónico[80].

En los abortos sépticos, en las enfermedades del tracto biliar o en heridas traumáticas se puede producir una infección por *Clostridium perfringens*. Esta bacteria grampositiva anaerobia produce la lecitinasa, una α-toxina, la cual reacciona con las lipoproteínas de la membrana del hematíe, libera la lisolecitina y provoca una hemólisis intravascular[78].

Otras causas infecciosas de anemia hemolítica son las septicemias asociadas a endocarditis por BGP y BGN, el cólera y la TBC miliar.

Leucocitos

La neutrofilia es habitual en las infecciones bacterianas, fúngicas, por espiroquetas y *Rickettsias*. Por lo general, esta neutrofilia es moderada, entre 15 y 25 × 10^9/L, aunque en determinadas infecciones, como abscesos, empiema o meningitis producidas por bacterias, no es excepcional hallar cifras superiores con desviación a la izquierda. La neutrofilia se produce por la liberación del *pool* marginal esplénico, secundaria al estímulo provocado por catecolaminas y aumento de la IL-1. En el frotis de sangre periférica se observa, además, granulación tóxica, cuerpos de Döhle, vacuolas citoplasmáticas y, en ocasiones, se detectan alteraciones displásicas transitorias. En algunos casos, la leucocitosis neutrofílica es superior a 50 × 10^9/L, puede cursar con una importante desviación a la izquierda, y se denomina reacción leucemoide. El ejemplo clásico de dicha reacción es la TBC diseminada, con leucocitosis que llega a alcanzar más de 200 × 10^9/L con desviación a la izquierda, y obliga a descartar una leucemia mieloide, aguda o crónica. Del mismo modo, en infecciones crónicas (tuberculosis, sífilis, brucela, malaria, leishmaniasis, endocarditis bacteriana subaguda) puede existir una monocitosis asociada. La eosinofilia se asocia con parasitosis que invaden tejidos (triquinosis, espiroquetas, hidatidosis), y es rara en las infecciones bacterianas, fúngicas, así como en las parasitosis intestinales.

La infección por *Bordetella pertussis* se asocia con linfocitosis por liberación de una toxina con efecto estimulante sobre los linfocitos. En ocasiones, también se ha descrito en otras infecciones, como en la tuberculosis, la infección por *Rickettsias*, la lúes y la brucelosis.

La linfocitopenia se observa en diversas condiciones, entre las que se incluyen sepsis, malaria, infecciones crónicas y, habitualmente, se asocia con neutrofilia, con disminución de los linfocitos T y posible aumento de las células B[78].

Plaquetas y hemostasia

Las enfermedades infecciosas van acompañadas con frecuencia de plaquetopenia y activación de la coagulación, debido, en parte, a la acción de citocinas (TNF, IL-1, IL-6). En los casos más graves, se desarrolla una CID con fallo multiorgánico. Determinadas circunstancias hacen que dicha complicación sea más frecuente: pacientes esplenectomizados que pueden presentar una CID secundaria a una infección por bacterias capsuladas (neumococo), en el embarazo, en neonatos y ancianos.

Las causas más frecuentes son las sepsis por bacilos gramnegativos, los cuales pueden producir CID, PTT o SHU. La vasculitis es más frecuente en las infecciones virales que acontecen en pacientes inmunodeprimidos.

La meningococemia es una infección grave producida por un coco gramnegativo (*Neisseria meningitidis*) caracterizada por la presencia de CID, necrosis hemorrágica y *shock*. Otros bacilos gramnegativos causantes de CID son: *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus vulgaris*. En todos estos casos, la mortalidad es alta, a pesar de un tratamiento específico precoz.

Entre los bacilos grampositivos que pueden producir una sepsis con CID asociada se encuentran microorganismos como *Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae* y las infecciones por bacilos gramnegativos anaerobios, como *Clostridium*.

Las infecciones fúngicas, la TBC diseminada, así como la malaria, también se han descrito asociadas con CID.

En el curso de estas infecciones se activa la coagulación a través de la vía extrínseca (factor tisular), debido principalmente a la liberación de endotoxinas y a la presencia de lipopolisacáridos de la membrana celular de los microorganismos. A pesar de existir un equilibrio entre la coagulación y la fibrinólisis, si predomina el estado de hipercoagulabilidad se produce una CID con trombosis microvascular, fallo multiorgánico, e hiperconsumo de plaquetas y de factores de la coagulación[77].

Síndrome hemofagocítico

El síndrome hemofagocítico inducido por infecciones puede ser secundario a infecciones virales, entre las que cabe destacar CMV, virus del herpes, HHV-8, parvovirus y, sobre todo, VEB, bacterianas, micobacterias y parasitarias (tabla 41.14). Se produce una proliferación histiocítica exagerada en la médula ósea, ganglios y sangre periférica. Este síndrome puede afectar a niños, adultos sanos e inmunodeprimidos. Clínicamente, cursa con fiebre, mal estado general, mialgias, postración y, en la infancia, suele cursar con hepatosplenomegalia y poliadenopatías. Se produce una pancitopenia o bicitopenia, con ocasionales macrófagos en sangre periférica. La médula ósea puede ser hipocelular, con gran disminución de las series eritropoyética y granulopoyética, y los megacariocitos suelen estar presentes en proporciones normales. El dato citológico constante es el incremento de los macrófagos medulares, en mayor o menor número, vacuolados, con fenómeno de hemofagocitosis. En la biopsia ganglionar se observa un aumento de los histiocitos con hemofagocitosis, sin llegar a borrar la arquitectura ganglionar. Aunque el curso clínico es muy grave y debe establecerse el diagnóstico diferencial con la histiocitosis maligna, los pacientes suelen recuperarse en semanas. Si se trata de un paciente trasplantado con tratamiento inmunosupresor, debe retirarse éste hasta que mejore el cuadro clínico.

TABLA 41.14

Síndrome hemofagocítico asociado a infecciones[75]

- *Virus*
  - Virus de Epstein-Barr
  - Citomegalovirus
  - Virus herpes simple
  - Virus varicela-zoster
  - Adenovirus
  - Parvovirus B19
- *Bacterias*
  - Cocos gramnegativos
  - *Haemophilus influenzae*
  - *Staphylococcus aureus*
  - *Streptococcus pneumoniae*
  - *Brucella abortus*
  - *Mycoplasma pneumoniae*
- *Hongos*
  - *Histoplasma capsulatum*
  - *Candida albicans*
  - *Cryptococcus neoformans*
- *Micobacterias*
  - *Micobacterium tuberculosis*
- *Rickettsias*
  - *Coxiella burnetii*
- *Parásitos*
  - *Leishmania donovani*
  - *Babesia microti*

BIBLIOGRAFÍA

1. Knight K, Wade S, Balbucci L. Prevalence and outcomes of anemia in cancer: a systematic review of the literature. Am J Med 2004; 116 (7A):11-26.
2. Means RT. Advances in the anemia of chronic disease. Int J Hematol 1999; 70:7-12.
3. Rizzo JD, Lichtin AE, Woolf SH, et al. Use of epoetin in patients with cancer: evidence-based clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology and the American Society of Hematology. Blood 2002; 100(7):2303-2320.
4. Bokemeyer C, Aapro MS, Courdi A, et al. EORTC guidelines for the use of erythropoietic proteins in anaemic patients with cancer. Eur J Cancer 2004; 40(15):2201-2216.
5. Oster W, Herrmann F, Gamm H, et al. Erythropoietin for the treatment of anemia of malignancy associated with neoplastic bone marrow infiltration. J Clin Oncol 1990; 8:956-962.
6. Charles RJ, Sabo KM, Kidd PG, Abkowitz JL. The pathophysiology of pure red cell aplasia:implications for therapy. Blood 1996; 87:4831-4838.
7. Spira MA, Lynch EC. Autoinmune hemolytic anemia and carcinoma: an unusual association. Am J Med 1979; 67:753-758.
8. Antman KH, Skarin AT, Mayer RJ, Hargreaves HK, Canellos GP. Microangiopathic hemolytic anemia and cancer: A review. Medicine (Baltimore) 1979; 58:377-384.
9. Gordon LI, Kwaan HC. Thrombotic microangiopathy manifesting as thrombotic thrombocytopenic purpura/hemolytic uremic syndrome in the cancer patient. Semin Thromb Hemost 1999; 25:217-221.
10. Gordon LI, Kwaan HC. Cancer and drug-associated thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome. Semin Hematol 1997; 34:140-147.
11. Bennett CL, Weeks JA, Somerfield MR, Feinglass J and Smith T. Use of hematopoietic colony-stimulating factors: comparison of the 1994 and 1997 American Society of Clinical Oncology surveys regarding ASCO clinical practice guidelines. J Clin Oncol 1999; 17: 3676-3681.
12. Ozer H, Armitage JO, Bennett CL, et al. 2000 update of recomendations for the use of hematopoietic colony-stimulating factors: evidence-based clinical practice guidelines. J Clin Oncol 2000; 18: 3558-3585.
13. Estrov Z, Talpaz M, Mavligit G, et al. Elevated plasma thrombopoietic activity in patiens with metastatic cancer-related thrombocytosis. Am J Med 1995; 98:551-558.
14. Arkel YS. Thrombosis and cancer. Semin Oncol 2000; 27:362-374.
15. Kwaan HC, Parmar S, Wang J. Pathogenesis of increased risk of thrombosis in cancer. Semin Thromb Hemost 2003; 29(3):283-290.
16. Callander N, Rapaport SI. Trousseau's syndrome. West J Med 1993; 158:364-371.
17. Rosen P, Armstrong D. Nonbacterial thrombotic endocarditis in patients with malignant diseases. Am J Med 1973; 54:23-29.
18. Deitcher SR, Gomes MP. The risk of venous thromboembolic disease associated with aduvant hormone therapy for breast carcinoma: a systematic review. Cancer 2004; 101:439-449.
19. Schriber JR, Herzip GP. Transplantation-associated thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome. Semin Hematol 1997; 34:126-133.
20. Mc Cune WJ. Systemic lupus erythematosus. Rheum Dis Clin North Am 1994; 20:1-308.
21. García Tello A, Villegas Martínez A, González Fernández A. Manifestaciones hematológicas en el lupus eritematoso sistémico. An Med Inter 2002; 19(10):539-542.
22. Pujol M, Ribera A, Vilardell M, Ordi J, Feliu E. High prevalence of platelet autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus. Br J Haematol 1995; 89:137-141.
23. Greaves M. Antiphospholipid antibodies and thrombosis. Lancet 1999; 353:1348-1353.
24. Cash JM, Sears DA. The anemic of chronic disease: spectrum of associated diseases in a series of unselected hospitalized patients. Am J Med 1989; 87:638-644.
25. Weiss G. Pathogenesis and treatment of anaemia of chronic disease. Blood Rev 2002; 16:87-96.
26. Spivak JL. Iron and the anemia of chronic disease. Oncology 2002; 16 (Suppl 10):25-33.
27. Remuzzi G, Minetti L. Hematologic consequences of renal failure. En: Brenner BM, ed. The Kidney. 6.ª ed. Filadelfia: WB Saunders, 2000; 2079-2102.
28. Stivelman JC. Anemia in uremia. En: Glassock RJ, ed. Current therapy in nephrology and hypertension, 4.ª ed. St. Louis: Mosby, 1998; 301-306.
29. European best practice guidelines for the management of anaemia in patients with chronic renal failure. Nephrol Dial Transplant 1999; 14 (Suppl 5):1-50.
30. Bennett CL, Luminari S, Nissenson AR, et al. Pure red-cell aplasia and epoetin therapy. N Engl J Med 2004; 351:1403-1408.
31. Weigert AL, Schafer AI. Uremic bleeding: pathogenesis and therapy. Am J Med Sci 1998; 316:94-104.
32. Escolar G, Cases A, Bastida E, et al. Uremic platelets have a functional defect affecting the interaction of Von Willebrand factor with glycoprotein IIb-IIIa. Blood 1990; 76:1336-1340.
33. Ansell JE. The blood in thyrotoxicosis. The blood in hypotiroidism. En: Werner and Ingbar's-The Thyroid, 7.ª ed. Braverman LE y Utiger RD (eds.). Filadelfia: 1996; 638-644; 822-825.
34. Hofbauer LC, Heufelder AE. Coagulation disorders in thyroid diseases. Eur J Endocrinol 1997; 136:1-7.
35. Bartalena L, Bogazzi F, Martino E. Adverse effects of thyroid hormone preparations and antithyroid drugs. Drug Saf 1996; 15:53-63.
36. Lee GR. The anemias associated with renal disease, liver disease, endocrine disease and pregnancy. En: Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM, eds. Wintrobe's, clinical hematology, 10.ª ed. Filadelfia: Lippincott Williams-Wilkins, 1999; 1497-1517.
37. Boxer M, Ellman L, Geller R, Wang CA. Anemia in primary hyperparathyroidism. Arch Intern Med 1977; 137:588.
38. Ricard MP, Martínez ML, Ruiz J. Spur cell hemolytic anemia of severe liver disease. Haematologica 1999; 84:654.

CAPÍTULO 42

La formación en hematología y hemoterapia

J. García-Conde

ÍNDICE

Criterios generales sobre educación y formación
La hematología y hemoterapia como especialidad médica
Propuesta de la Comisión Nacional de Hematología y Hemoterapia para la formación en esta especialidad
- Conocimientos teóricos de ciencias básicas
- Conocimientos teóricos propios de la especialidad
  - *Conocimientos generales*
  - *Conocimientos específicos*
- Habilidades
  - *Generales*
  - *Clínica hematológica*
  - *Laboratorio*
  - *Medicina transfusional*
- Conocimientos de gestión. Economía de la salud
- Rotaciones
  - *Cronología*
  - *Calendario*
- Objetivos específicos operativos/actividades por año de residencia
  - *Objetivos específicos operativos. Cognoscitivos y habilidades*
  - *Actividades*
- Metodología de la evaluación
  - *Evaluación de recursos*
  - *Evaluación del proceso docente*
  - *Evaluación de los resultados*
  - *Evaluación final del residente*

Formación en investigación
Bibliografía

CRITERIOS GENERALES SOBRE EDUCACIÓN Y FORMACIÓN

La formación de profesionales que desempeñen correctamente su actividad es una de las aspiraciones más importantes de una sociedad moderna[1].

El desarrollo de un programa formativo en cualquier especialidad lleva implícito un proceso educativo como personas, como profesionales y, asimismo, en los aspectos técnicos que caracterizan a cada área específica. Lo más importante inicialmente no es organizar con gran meticulosidad y detalle las rotaciones por los diversos servicios. Para una adecuada relación en estos servicios con los pacientes, con las personas que integran el grupo de trabajo y con la organización del propio hospital son imprescindibles unas bases previas respecto a valores y a conceptos de ciudadanía.

La sociedad humana se encuentra, así como la ciencia y la práctica clínica, en una permanente transformación, y por ello es necesario preveer un futuro viable. Esto requiere una educación en la capacidad para modificar nuestro pensamiento para poder abordar una creciente complejidad, la rapidez de los cambios y su carácter imprevisible. Para ello, es imprescindible derribar las barreras tradicionales para poder aplicar y relacionar las nuevas exigencias de la sociedad y de la profesión médica.

Estos cambios y, por tanto, la educación sobre ellos requiere que se hagan con calidad, es decir, no con la idea de sobrevivir sino con la convicción de la necesidad de integrarse e identificarse con las formas actuales de vida, no limitándose a criterios de duración y cantidad sino de intensidad y calidad.

La educación tiene fuertes componentes relacionados con la dirección, que se ejerce sobre las personas para intentar progresar a una participación cada vez más activa en las fases formativas en las que las actitudes alcanzan niveles de desarrollo importante así como, entre ellas, la capacidad para seguir autoformándose.

Edgar Morin[2] indica que para la educación del futuro es necesario alcanzar siete saberes, además del saber científi-

co: las cegueras del conocimiento, representadas por el error y la ilusión, los principios del conocimiento pertinente, enseñar la condición humana, conocimiento del desarrollo planetario, afrontar las incertidumbres, enseñar a comprender y aprender y, sobre todo, considerar la ética del género humano. No obstante, frente a este sistema complejo también es necesario profundizar en acciones de simplicidad que siguen teniendo una gran relevancia.

Los valores humanos representan uno de los aspectos más sólidos de una formación. Tienen diversas características, pero representan la coherencia entre lo que se sabe, lo que se vive y lo que se enseña[3]. Ortega[4] indica que cuando nos enfrentamos a las cosas no sólo hacemos operaciones intelectuales, como comprenderlas, compararlas entre sí o clasificarlas, sino que también las estimamos o desestimamos, las preferimos o las relegamos: es decir las valoramos. Xavier Zubiri indicaba que los valores como la libertad, la solidaridad, el diálogo o la belleza valen realmente para poder «acondicionar» el mundo para que podamos vivir en él plenamente como personas. Estos valores morales son integradores de los demás, y se presentan de una forma evidente en la relación entre el personal sanitario y los enfermos, las familias, la sociedad y la organización.

El concepto de ciudadanía[5] presenta en cualquier persona un punto de unión entre la razón, los valores y las normas que consideramos como humanizadoras. Ello pretende sintonizar con dos de nuestros más profundos sentimientos racionales: pertenecer a una comunidad y el de justicia de esta misma comunidad. Sólo se puede sentir una persona como ciudadano integrado en una comunidad si ésta es justa. Por ello, Kant[6] proporciona como propias de una constitución republicana: la libertad de cada miembro de la sociedad en cuanto hombre o mujer, la igualdad en cuanto súbdito y la independencia en cuanto ciudadano.

La evolución de las profesiones sanitarias también han cambiado sobre la base de paradigmas diferentes[7]. El modelo actual se separa del clásico basado en el paternalismo, el monopolio y los privilegios, para avanzar hacia una renuncia de los criterios anteriores y desarrollar la promoción de la excelencia, la deliberación horizontal y los nuevos modelos de gestión.

Creo que estos aspectos permiten ahora comprender mejor la acción de la profesión médica y las premisas de una formación en la que están presentes diversos actores con diferentes papeles, en un medio determinante y en un sistema de cambios y transformaciones aceleradas.

LA HEMATOLOGÍA Y HEMOTERAPIA COMO ESPECIALIDAD MÉDICA

El proceso de cultivar la ciencia, aplicarla, investigar, enseñarla y seguir aprendiendo son acciones íntimamente relacionadas y complementarias para la formación de buenos profesionales.

La Hematología es una de las especialidades médicas que más ha progresado en los últimos 25 años y, por ello, no sólo han evolucionado los conocimientos sino también la organización para una formación adecuada, el desarrollo de las instituciones que imparten estas enseñanzas, las características técnicas y éticas y, asimismo, la selección de quienes aspiran a formarse y la cualificación de los centros implicados en estas actividades.

El desarrollo de la formación en Hematología requiere acciones de racionalidad no exentas de consideraciones emotivas, y asumir situaciones que proceden de la influencia que ejercen los medios que rodean este proceso. Por ello, la razón significa un recurso humano basado en el pensamiento, la acción y la evaluación, que permite elegir y seguir eligiendo la mejor opción, alejada de sofismas que contienen la idea tan divulgada de que «el fin justifica los medios».

La formación de especialistas en Hematología por el sistema MIR representó hace 25 años uno de los avances más importantes y consolidados de la Medicina de nuestro país, establecida sobre el criterio de una responsabilidad progresiva y controlada[8]. Ante este hecho positivo, aparecen varias dificultades evidentes:

- No se ha producido ningún cambio en la selección de los futuros candidatos a la especialidad.
- Se conceden acreditaciones a centros que no reúnen actividades asistenciales, formativas y de investigación adecuadas.
- Los futuros especialistas tienen un retraso formativo que procede de la formación universitaria y de la preparación posgraduada antes de iniciar la especialidad. Ésta queda reducida a un año de Medicina Interna y tres de Hematología.

La Hematología es una especialidad compleja, por la amplitud de sus contenidos, por las diversas habilidades y actitudes que hay que desarrollar, por la compleja organización en la que se integran Servicios Centrales como el Banco de Sangre y el Laboratorio de Hematología, y actividades específicas amplias como la formación en Oncología Clínica y Hematológica y en Trasplante Alogénico[9-12]. Es, por tanto, una especialidad que comprende un gran contenido científico y tecnológico, y una dimensión de formación clínica y organizativa, posiblemente de las más complejas de la Medicina actual. Exige, por tanto, atender a la incorporación de una parte importante de conocimientos, a la adquisición de habilidades muy diferentes y a la obtención de un perfil de actitudes orientadas a la particularidad de los pacientes y a la complejidad del sistema organizativo.

De todos estos aspectos genéricos se deduce que la concepción actual de la especialidad de Hematología y Hemoterapia está constituida por cuatro sectores íntimamente relacionados: clínica hematológica, morfología y biología hematológica, hemostasia y trombosis y medicina transfusional.

La clínica hematológica es particularmente compleja en el área oncológica. Esto requiere una formación en oncología médica con un conocimiento profundo de los fármacos, tanto de quimioterapia como de bioterapia. Es imprescindible insistir en que para la aplicación de protocolos, asistenciales o ensayos clínicos se debe conocer la farmacocinética, las interacciones y los efectos tóxicos de estos productos.

El progreso y la complejidad de la Hematología se debe a la incorporación de grandes avances en la biología, en la tecnología y en su aplicación a la clínica. Ello ha hecho cada vez más profunda la doctrina de la especialidad, y ha incorporado nuevas áreas como la citometría, la citogenética y la biología molecular. Estos conocimientos y una tecnología cada vez más amplia y precisa han proyectado también desarrollos terapéuticos interesantes, como la terapéutica celular, el trasplante de células primitivas hematopoyéticas y los tratamientos sobre dianas tumorales relacionadas con las señales de transducción.

La formación en Hematología requiere combinar los aspectos básicos con desarrollos flexibles de adaptación, en una especialidad tan amplia para poder cubrir los deseos, los intereses, las capacidades y las posibilidades del médico en formación. Un tiempo de 4 años de formación es limitado para poder alcanzar un número tan importante de objetivos. Éstos tienen que ser relevantes, concretos, bien instruidos, comprobando que se saben realizar y no limitándose a su mera exposición. La formación de profesionales no se puede transformar en una inercia donde sólo cambia la ciencia, las complejidades y las organizaciones, y no se modifican los criterios formativos, la calidad de los mismos y, sobre todo, el control que permita tener una cierta evidencia acerca de una homogeneidad flexible en el entorno de nuestro país y de Europa.

Las especialidades que son tan amplias y diversas como la hematología requieren una formación básica sobre sus aspectos más generales y una posible definición al tener que conocer y, posteriormente, optar por la profundización en habilidades, actitudes y conocimientos en áreas biológicas o en desarrollos clínicos precisos.

La tendencia en el diseño de cualquier especialidad, y de forma particular en Hematología, suele ser un tanto rígida y exigente en recorrer la totalidad de los campos que la constituyen. Se percibe una tendencia por parte de los encargados de ciertas áreas de la hematología a hacer de éstas los aspectos más destacados del conocimiento hematológico. En ésta y en otras especialidades, conocimientos, tecnología y exigencias organizativas están sometidas a un cambio natural, y ante ello será imprescindible, para obtener una formación viable, la elección de áreas de preferencia relacionadas con la orientación o posibilidades futuras de trabajo.

PROPUESTA DE LA COMISIÓN NACIONAL DE HEMATOLOGÍA Y HEMOTERAPIA PARA LA FORMACIÓN EN ESTA ESPECIALIDAD[9]

Conocimientos teóricos de ciencias básicas

- Conocimientos básicos de Anatomía Patológica, Bioquímica, Inmunología, Genética y Biología Molecular.
- Conocimientos de Estadística y Epidemiología.
- Medicina basada en la evidencia: conceptos generales y metodología.
- Metodología de información científica y manejo de sistemas informáticos.

Conocimientos teóricos propios de la especialidad

Conocimientos generales

Evaluación clínica del paciente hematológico

- Historia clínica.
- Proceso diagnóstico.
- Técnicas generales y especiales de exploración.

Laboratorio de Hematología y Hemoterapia

- Estructura y funcionamiento de un laboratorio asistencial.
- Principios de seguridad biológica. Aspectos legales y técnicos.
- Control de calidad del laboratorio de Hematología y Hemoterapia.
- Técnicas especializadas de laboratorio:
  - Manejo de autoanalizadores.
  - Citomorfología de la sangre periférica.
  - Citomorfología de la médula ósea. Técnicas histoquímicas.
  - Técnicas diagnósticas del síndrome anémico.
  - La citometría de flujo en el diagnóstico de las enfermedades hematológicas.
  - Técnicas básicas de citogenética.
  - Técnicas básicas de biología molecular.
  - Técnicas de hemostasia y trombosis.
  - Técnicas de inmunohematología.
  - Técnicas de obtención de componentes sanguíneos: convencionales y por aféresis.
  - Técnicas de aféresis terapéuticas.
  - Técnicas de obtención, manipulación y preservación de progenitores hematopoyéticos.

Conocimientos específicos

Hematología molecular y celular

- Estructura y función de la médula ósea y el microambiente medular.
- La célula multipotente hematopoyética, células progenitoras, factores de crecimiento y citocinas.
- Estructura y función del tejido linfoide.
- Principios de genética y biología molecular.
- Citogenética y reordenamientos genéticos en enfermedades hematológicas.
- El ciclo celular y su regulación. Apoptosis.
- Moléculas accesorias y señales de transducción.
- Antígenos de diferenciación.
- Cultivos celulares y citocinas.

Principios terapéuticos generales

- Los agentes antineoplásicos: farmacología y toxicidad.
- Tratamiento de las infecciones en el paciente hematológico.
- Trasplante hematológico de células progenitoras.
- Métodos e indicaciones de la terapia celular.
- Principios de terapia génica.
- Tratamiento de soporte.
- Medicina transfusional.

Fisiología y patología de la serie roja

- Biología de la eritropoyesis, diferenciación eritroide y maduración.
- Biopatología y fisiopatología del eritrocito: estructura, bioquímica y procesos metabólicos, morfología y función. Estructura y función de la hemoglobina.
- Manifestaciones clínicas y clasificación de los trastornos eritrocitarios.
- Aplasia medular. Hemoglobinuria paroxística nocturna. Aplasia de células rojas pura.
- Anemias diseritropoyéticas congénitas.
- Anemia secundaria a procesos de otros órganos y sistemas: insuficiencia renal crónica, endocrinopatías, enfermedades crónicas, neoplasias y otras.
- Anemias megaloblásticas.
- Alteraciones del metabolismo del hierro. Anemia ferropénica. Sobrecarga de hierro.
- Alteraciones de la síntesis del hemo: anemias sideroblásticas. Porfirias.
- Anemias hemolíticas. Concepto y clasificación.
- Anemias hemolíticas por defectos en la membrana.

- Anemias por déficit enzimáticos.
- Anemias por trastornos de la hemoglobina. Talasemias. Anemia de células falciformes. Otras hemoglobinopatías.
- Anemias hemolíticas de mecanismo inmune.
- Anemias hemolíticas extrínsecas de origen no inmune: mecánicas, microangiopáticas, por agentes químicos, físicos o infecciones.
- Hiperesplenismo e hipoesplenismo.
- Poliglobulia.

Fisiología y patología de los leucocitos

- Granulopoyesis y monocitopoyesis.
- Morfología, bioquímica y función de los granulocitos y monocitos.
- Trastornos cuantitativos y cualitativos de los granulocitos neutrófilos.
- Enfermedades de los eosinófilos y basófilos.
- Clasificación y manifestaciones clínicas de los trastornos de los monocitos y los macrófagos. Histiocitosis benignas. Enfermedades de depósito.
- Enfermedades del bazo.
- El sistema inmunitario. Desarrollo, regulación y activación de las células B y T.
- Trastornos cuantitativos de los linfocitos.
- Síndromes mononucleósicos.
- Inmunodeficiencias. Síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

Patología del tejido hematopoyético

- Síndromes mielodisplásicos (SMD).
- Síndromes mielodisplásicos-mieloproliferativos.
- Leucemia mieloide crónica. Leucemia neutrofílica crónica. Leucemia eosinofílica crónica. Síndrome hipereosinofílico.
- Policitemia *vera*.
- Trombocitemia esencial.
- Mielofibrosis idiopática crónica.
- Leucemia aguda mieloide.
- Leucemia linfoblástica aguda.
- Leucemia linfática crónica. Leucemia prolinfocítica. Tricoleucemia.
- Linfoma de Hodgkin.
- Linfoma no hodgkiniano.
- Linfoma no hodgkiniano en la infancia.
- Linfomas de células T cutáneos.
- Enfermedades linfoproliferativas asociadas con inmunodeficiencias.
- Mieloma múltiple.
- Otras gammapatías monoclonales. Gammapatía monoclonal de significado incierto. Macroglobulinemia de Waldenström. Amiloidosis. Enfermedades de cadenas pesadas.
- Neoplasias de células histiocíticas y dendríticas.
- Mastocitosis.

Hemostasia y trombosis

- Megacariopoyesis y trombopoyesis.
- Morfología, bioquímica y función de las plaquetas.
- Fisiología de la hemostasia. Bioquímica y biología molecular de los factores de la coagulación. Mecanismos moleculares de la fibrinólisis.
- Púrpuras vasculares.
- Alteraciones cuantitativas de las plaquetas. Trombocitopenias. Trombocitosis.
- Alteraciones cualitativas de las plaquetas. Trombocitopatías.
- Hemofilia A y B.
- Enfermedad de Von Willebrand.
- Alteraciones adquiridas de la coagulación y la fibrinólisis.
- Otras alteraciones adquiridas de la coagulación y la fibrinólisis.
- Coagulación intravascular diseminada.
- Trombofilia hereditaria y adquirida.
- Enfermedad tromboembólica venosa: epidemiología, clínica, diagnóstico, profilaxis y tratamiento.
- Trombosis arterial: papel terapéutico de los antiagregantes, anticoagulantes y trombolíticos.

Medicina transfusional

- Inmunología de los hematíes.
- Inmunología de leucocitos, plaquetas y componentes plasmáticos.
- Enfermedad hemolítica del feto y del neonato.
- Obtención, estudio y conservación de la sangre y de sus componentes.
- Indicaciones, eficacia y complicaciones de la transfusión de sangre, hemocomponentes y hemoderivados.
- Autotransfusión.
- Aféresis celulares y plasmáticas.
- Legislación referente a Medicina transfusional.

Hematología y otras especialidades

- Hematología pediátrica y neonatal.
- Hematología del anciano.
- Complicaciones hematológicas en Obstetricia.
- Complicaciones hematológicas en la Unidad de Cuidados Intensivos.
- Hematología tropical.

Habilidades

Generales

- Manejo de hojas de datos informatizadas, de programas de bioestadística y paquetes integrados.
- Manejo de la bibliografía médica. Búsquedas electrónicas y fuentes de información de medicina basada en la evidencia.
- Conocimientos de bioética.
- Técnicas y métodos de gestión.
- Conocimiento del inglés científico.

Clínica hematológica

- Práctica clínica. Atención integral del paciente hematológico.
- Realización de diagnóstico, pronóstico y tratamiento de pacientes con cualquier tipo de enfermedad de la sangre y de los órganos hematopoyéticos, tanto en régimen ambulatorio como en régimen hospitalario.
- Capacidad para atender cualquier tipo de urgencia en pacientes hematológicos.
- Dominio de las diferentes técnicas relacionadas con el trasplante de progenitores hematopoyéticos y del manejo clínico de los pacientes.
- Capacidad para elaborar informes escritos adecuados a la situación clínica y circunstancias del paciente (ingreso hospitalario, atención ambulatoria, etc.).
- Capacidad de responder a los informes solicitados por cualquier otro Servicio del Hospital referidos a las complicaciones hematológicas de otro tipo de patologías.

- Capacidad de establecer una adecuada relación con los pacientes y familiares, así como de transmitir a los mismos la información relativa a su enfermedad de la manera más adecuada.
- Capacidad para valorar los aspectos éticos de las decisiones que se adopten.
- Capacidad para valorar en el proceso de toma de decisiones, la relación riesgo/beneficio y coste/beneficio de las exploraciones complementarias o de cualquier tipo de tratamiento que se proponga al paciente.

Laboratorio

- Obtención, procesamiento, conservación y transporte de todo tipo de muestras de uso en el laboratorio.
- Manejo práctico de todo tipo de instrumental de laboratorio, calibración de aparatos, preparación de reactivos y control de calidad de las pruebas de laboratorio.
- Diferentes técnicas de hematimetría básica y automatizada, así como de citomorfología y citoquímica hematológica.
- Técnicas especiales de citometría de flujo, técnicas básicas de biología molecular y citogenética aplicadas a los procesos hematopoyéticos.
- Técnicas de laboratorio relacionadas con el diagnóstico de cualquier tipo de anemias.
- Técnicas de laboratorio relacionadas con la hemostasia y con el diagnóstico de las diátesis hemorrágicas y los procesos trombóticos.
- Sistemas de control de calidad del laboratorio de Hematología en sus diferentes secciones.

Medicina transfusional

- Técnicas de promoción de la donación de sangre y hemocomponentes, y búsqueda de donantes.
- Técnicas de selección de donantes de sangre y hemocomponentes.
- Procesos de hemodonación con técnicas convencionales, de aféresis y autotransfusión.
- Técnicas de estudio de la sangre y hemocomponentes.
- Métodos de obtención de componentes sanguíneos a partir de sangre total.
- Condiciones de almacenamiento selectivo de los hemocomponentes y manejo de los depósitos.
- Técnicas de laboratorio de inmunohematología.
- Técnicas de obtención, manipulación y criopreservación de progenitores hematopoyéticos.
- Control de la terapéutica transfusional a nivel hospitalario.
- Sistema de hemovigilancia a nivel hospitalario.
- Sistemas de control de calidad en medicina transfusional.

Conocimientos de gestión. Economía de la salud

- Técnicas y métodos de los sistemas de gestión clínica.
- Técnicas y métodos de los sistemas de gestión del laboratorio.
- Técnicas y métodos de los sistemas de gestión del banco de sangre.

Rotaciones

Las diferentes rotaciones tienen como objetivo conseguir la adquisición, por parte del residente, de los conocimientos, habilidades y actitudes que dimanan de los contenidos actuales de la especialidad.

La formación del residente en Hematología y Hemoterapia tiene dos fases bien diferenciadas: una primera de formación genérica que pretende establecer una base sólida de conocimientos y actitudes en Medicina Interna y sus especialidades médicas, y una segunda específica en Hematología y Hemoterapia. Las rotaciones por las distintas especialidades de la Medicina Interna deben adaptarse a los objetivos, y pueden ser flexibles de acuerdo con las peculiaridades organizativas de cada Hospital, siempre bajo la supervisión del Comité de Docencia local.

El presidente de la Comisión de Docencia deberá comprometerse a que se cumplan los programas formativos y los objetivos delimitados y cuantificados en la formación de los residentes indicados en esta guía. Todo ello es responsabilidad de dicha Comisión. Consideramos que debe implantarse la figura del tutor como interlocutor directo entre la Comisión y el residente, y como garante de la ejecución adecuada de los programas de formación.

Las Comisiones de Docencia determinarán la viabilidad de la consecución de objetivos. En caso de no poder llevarse a cabo, podrán realizarse en otros Servicios aunque no se encuentren acreditados.

Cronología

Excluyendo los períodos vacacionales se dispone de 44 meses naturales:

- Medicina Interna y Especialidades Médicas: 11 meses.
- Citomorfología y Biología hematológica: 13 meses.
- Hemostasia y Trombosis: 4 meses.
- Banco de Sangre e Inmunohematología: 5 meses (al menos 1 mes en un Centro Regional de Hemodonación).
- Hematología clínica. Hospitalización: 11 meses (al menos 2 meses deberán realizarse en una unidad acreditada para la realización de trasplante alogénico de médula ósea).
- Consultas externas: 12 meses no coincidentes con la rotación de Hematología clínica (1 día a la semana).

Calendario

El orden de las rotaciones es orientativo. Se pueden realizar cambios en las mismas dependiendo de las características de los Servicios, del número de residentes que exista en cada momento, o de otras circunstancias locales, de manera que exista una distribución racional y que se aproveche al máximo la estructura formativa.

- Primer año:

  Enero-diciembre: Medicina Interna y Especialidades Médicas (incluyendo Medicina Intensiva). Su calendario se realizará de acuerdo con la disponibilidad de cada Servicio y según el organigrama de la Comisión de Docencia.

  Las guardias durante este primer año se realizarán en Urgencias y/o en Medicina Interna (y subespecialidades) un máximo de cinco por mes. Este número podrá modificarse excepcionalmente según las necesidades del Hospital, con el visto bueno de la Comisión de Docencia.
- Segundo a cuarto año:
  a) Clínica hematológica. Hospitalización: 11 meses.
     Durante un año que coincida con la rotación en la planta de Hematología, atenderá un día por semana una de las consultas externas.

b) Citomorfología y Biología hematológica: 13 meses (incluye citomorfología, hematimetría, eritropatología, citometría, citogenética y biología molecular).
c) Hemostasia y trombosis: 4 meses.
d) Medicina transfusional: 5 meses (incluye un mes por un Centro Regional de Hemodonación).

Durante el período de formación específica en Hematología, el futuro hematólogo deberá integrarse desde el comienzo en las distintas unidades, asumiendo con progresiva responsabilidad las tareas que se le vayan asignando, para llevarlas a cabo con autonomía progresiva. Los objetivos específicos de cada rotación se especifican en el apartado siguiente.

Objetivos específicos operativos/actividades por año de residencia

Dado que la estructura del programa formativo se ha realizado en función de las diferentes áreas de aprendizaje, y éstas pueden cambiar según las características de los centros, los objetivos específicos y actividades se han clasificado basándose en dichas áreas.

Conviene tener en consideración que los residentes aprenden mientras trabajan, y que se pretende un equilibrio entre formación y responsabilidad, que debe ser progresivo para su formación.

Objetivos específicos operativos. Cognoscitivos y habilidades

Los objetivos a alcanzar por el residente se clasifican según tres niveles diferentes de habilidad:

- Nivel de habilidad 1: lo que puede realizar un residente de manera independiente.
- Nivel de habilidad 2: aquello sobre lo que el residente debe tener conocimiento, pero sin formación para su realización completa de manera independiente.
- Nivel de habilidad 3: tratamientos, exploraciones o técnicas sobre las que el residente debe tener, por lo menos, un conocimiento teórico, pero no obligatoriamente práctico.

Objetivos a alcanzar durante la rotación por Medicina Interna y especialidades médicas

Nivel de habilidad 1:

- La rotación por Medicina Interna y especialidades médicas tiene por objeto que el residente adquiera el máximo entrenamiento en el diagnóstico y tratamiento de los grandes síndromes (p. ej., insuficiencia cardíaca, respiratoria, renal, diabetes, hipertensión, shock) haciendo especial énfasis en el cuidado de los pacientes críticos (dominando las técnicas de reanimación cardiopulmonar).
- Además, deberá saber interpretar las técnicas complementarias básicas para el ejercicio clínico cotidiano:
  - Electrocardiograma.
  - Radiología simple.
  - Ecografía.
  - TC y RM.
  - Pruebas funcionales respiratorias, etc.
  - Dominar las punciones de cavidades (paracentesis, toracocentesis y punción lumbar).
  - Finalmente, deberá estar familiarizado con las complicaciones hematológicas comunes a otras especialidades.

Objetivos a alcanzar durante la rotación por clínica hematológica

Nivel de habilidad 1:

- Aprendizaje con responsabilidad progresiva en el manejo clínico de los pacientes con patología hematológica en sus aspectos diagnósticos, pronósticos y terapéuticos, tanto la patología de tipo neoplásico, como leucemias, linfomas, mielomas, etc., como la patología no neoplásica, incluyendo las anemias congénitas o adquiridas, alteraciones de los leucocitos o trastornos de la hemostasia y coagulación sanguínea.
- Manejo de los pacientes, en la planta de hospitalización.
- Manejo de los pacientes en consultas externas.
- Manejo de los pacientes en el hospital de día.
- Atención a interconsultas clínicas e informes solicitados por otros Servicios.

Nivel de habilidad 2:

- Indicaciones, manejo y complicaciones de pacientes ingresados en una Unidad de trasplante de progenitores hematopoyéticos, tanto autólogo como alogénico a partir de donante emparentado.

Nivel de habilidad 3:

- Indicaciones, manejo y complicaciones de pacientes sometidos a trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos a partir de donante no emparentado.
- Trasplante de cordón umbilical.
- Técnicas de gestión y sistemas de calidad de una Unidad de hematología clínica.

Objetivos a alcanzar durante la rotación por citomorfología y biología hematológica

Nivel de habilidad 1:

- Obtención de muestras, manipulación, transporte y conservación.
- Hematimetría básica automatizada.
- Morfología hematológica.
- Técnicas de citoquímica.
- Estudio de las anemias y eritrocitosis.
- Estudio de leucemias y otras hemopatías malignas mediante técnicas convencionales.
- Manejo de instrumentos de laboratorio, validación y control de calidad.

Nivel de habilidad 2:

- Estudios funcionales de las células hemáticas.
- Estudios inmunofenotípicos por citometría.
- Caracterización inmunofenotípica de leucemias, síndromes mielodisplásicos, linfomas y otras hemopatías.
- Técnicas de PCR y su valoración en el diagnóstico y seguimiento de las hemopatías.

Nivel de habilidad 3:

- Cariotipo de las enfermedades hematológicas.
- Técnicas de FISH y su valoración en el diagnóstico y seguimiento de las hemopatías.
- Técnicas de gestión y sistemas de calidad del Laboratorio.

Objetivos a alcanzar durante la rotación por hemostasia y trombosis

Nivel de habilidad 1:

- Estudios básicos de hemostasia primaria y función plaquetaria.

- Estudios específicos de hemofilias, enfermedad de Von Willebrand y otras coagulopatías congénitas.
- Estudios de trombofilia.
- Control de la terapéutica anticoagulante.
- Control del tratamiento trombolítico.
- Manejo de instrumentos de laboratorio, validación y control de calidad.

Nivel de habilidad 2:
- Estudios complejos de función plaquetaria.
- Técnicas de PCR y su valoración en el diagnóstico de diversos estados trombofílicos.

Nivel de habilidad 3:
- Técnicas de biología molecular para el estudio de pacientes y portadores de diversas coagulopatías congénitas.
- Técnicas de gestión y sistemas de calidad de Laboratorio.

Objetivos a alcanzar durante la rotación por medicina transfusional e inmunohematología

Nivel de habilidad 1:
- Selección de donantes.
- Técnicas de hemodonación, incluyendo extracción, fraccionamiento y conservación de los diversos hemoderivados.
- Técnicas de detección de infecciones transmisibles.
- Estudios inmunohematológicos.
- Política transfusional e indicaciones de la transfusión de los distintos hemoderivados.
- Técnicas de autotransfusión.
- Técnicas de aféresis.
- Técnicas de obtención de progenitores hematopoyéticos.
- Manejo de aparatos de aféresis y de criopreservación.
- Técnicas de control de calidad.

Nivel de habilidad 2:
- Técnicas de obtención, manipulación y criopreservación de progenitores hematopoyéticos.
- Papel del Banco de Sangre en el trasplante de órganos.
- Técnicas de biología molecular aplicadas a problemas inmunohematológicos.

Nivel de habilidad 3:
- Técnicas de obtención, criopreservación y conservación de células de cordón umbilical.
- Técnicas de gestión y sistemas de calidad del Banco de Sangre.

Actividades

Esta Comisión ha estratificado los niveles de habilidades que el residente debe asumir de forma escalonada y considera que no corresponde a la misma establecer «niveles de responsabilidad» asociados a la labor asistencial del residente.

Las actividades por año de residencia han quedado, en parte, expuestas en el apartado en el que se especifican las rotaciones. De una manera más pormenorizada, en cada una de las rotaciones previstas deberán cubrirse las siguientes actividades:

Actividades asistenciales

Rotación de hematología clínica (hospitalización y consulta externa). Al final de la rotación el residente debe ser capaz de:
- Conocer las manifestaciones clínicas de las enfermedades hematológicas, su pronóstico, tratamiento y prevención, así como las manifestaciones hematológicas de otras enfermedades. De igual modo, debe conocer los efectos secundarios de los tratamientos utilizados y su manejo clínico.
- Realizar las anamnesis y la exploración física, elaborar un juicio clínico razonado y la orientación diagnóstica de todos los pacientes que ingresen en la sala de hospitalización y/o acudan por primera vez a la consulta externa.
- Indicar e interpretar adecuadamente las exploraciones complementarias y técnicas de imagen más usadas en la patología hematológica.
- Informar apropiadamente a los pacientes y a sus familiares de todos los aspectos de la enfermedad y de su tratamiento.
- Conducir el manejo clínico directo durante al menos 6 meses de un mínimo de seis pacientes hospitalizados
- Dominar las punciones de cavidades (paracentesis, toracocentesis y punción lumbar).
- Realizar adecuadamente las interconsultas clínicas que el resto de los Servicios del hospital solicite.
- Realizar la consulta externa de forma autónoma a partir del segundo mes.
- Participar directamente en las Sesiones clínicas del Servicio
- Asistir a todas las necropsias de pacientes que hayan estado bajo su responsabilidad directa.
- Coordinar la realización de al menos dos sesiones anatomoclínicas cerradas.

Rotación de citomorfología y biología hematológica. Al final de la rotación el residente debe ser capaz de:
- Obtener muestras sanguíneas por venopunción.
- Conocer con detalle el manejo y funcionamiento de los contadores.
- Realizar e interpretar frotis sanguíneos.
- Realizar e interpretar aspirados medulares.
- Realizar biopsias óseas.
- Realizar e interpretar las tinciones citoquímicas que permitan un adecuado diagnóstico citológico.
- Realizar e interpretar todas las técnicas de la Sección serie roja (determinación de sideremia y ferritinemia, fragilidad osmótica, autohemólisis, electroforesis de hemoglobinas, test de Ham y sucrosa, etc.).
- Realizar e interpretar las técnicas de citometría de flujo, tanto para el inmunofenotipaje diagnóstico de las hemopatías como para el seguimiento de la enfermedad mínima residual
- Interpretar las técnicas de citogenética en el diagnóstico hematológico.
- Realizar e interpretar las técnicas básicas de biología molecular.
- Ser capaz de dirigir la labor de los técnicos de laboratorio y de resolver los problemas prácticos que plantean.
- Ser capaz de llevar a cabo un programa de gestión y control de calidad de laboratorio, incluyendo el conocimiento de los aparatos básicos para montar un laboratorio de hematología.

Rotación de hemostasia y trombosis. Al final de la rotación el residente debe ser capaz de:
- Dominar los sistemas de separación de componentes sanguíneos necesarios para los diferentes estudios de hemostasia.
- Interpretar, informar y controlar los tratamientos anticoagulantes.

- Interpretar, informar y controlar los tratamientos antifibrinolíticos.
- Interpretar, informar y controlar los estudios de hemostasia de la interconsulta hospitalaria.
- Realizar e interpretar el tiempo de hemorragias.
- Conocer y controlar el funcionamiento de los coagulómetros y de las diferentes pruebas de coagulación plasmática.
- Realizar e interpretar los estudios de agregación plaquetaria
- Realizar e interpretar las técnicas diagnósticas de la enfermedad de Von Willebrand y de la hemofilia.
- Realizar e interpretar las técnicas diagnósticas de trombofilia.
- Conocer las técnicas básicas de biología molecular para el diagnóstico de los diferentes tipos de diátesis hemorrágicas y estados trombofílicos.

ROTACIÓN DE MEDICINA TRANSFUSIONAL E INMUNOHEMATOLOGÍA (INCLUYE ROTACIÓN POR EL BANCO DE SANGRE Y CENTRO REGIONAL DE HEMODONACIÓN). AL FINAL DE LA ROTACIÓN EL RESIDENTE DEBE SER CAPAZ DE:

- Dominar las indicaciones de la transfusión, pruebas pretransfusionales y seguimiento postransfusional.
- Conocer los aspectos relativos al Banco de Sangre en el trasplante de progenitores hematopoyéticos y de otros órganos, así como la autotransfusión.
- Conocer el funcionamiento y manejo de los programas de aféresis (plasma, plaquetas y células progenitoras) y plasmaféresis.
- Conocer el funcionamiento y manejo de los programas de criopreservación.
- Conocer las indicaciones y la metodología de la exsanguinotransfusión.
- Conocer las técnicas de extracción, aféresis, cultivos, procesamientos y criopreservación de progenitores hematopoyéticos.

Después de cada rotación, el responsable de cada Sección que ha tutelado la formación y el trabajo realizado por el MIR realizará una valoración en las hojas que se adjuntan; estas hojas, una vez cumplimentadas, serán entregadas al tutor.

Actividades científicas

- Realizar diversas presentaciones en sesión clínica en relación con los pacientes hospitalizados.
- Participar activamente en las sesiones bibliográficas del Servicio.
- Participar activamente en sesiones conjuntas programadas con otros Servicios, en relación con la especialidad (p. ej., radiodiagnóstico, anatomía patológica).
- Presentar algunas de las sesiones monográficas programadas en el Servicio.
- Presentar un mínimo de tres comunicaciones a Congresos
- Haber participado directamente en la publicación de, al menos, dos trabajos en revistas que se incluyan en el *Journal of Citation Reports*.
- Colaborar en la docencia de los estudiantes que roten por el Servicio.
- Participar en cursos o seminarios de Gestión clínica, Bioética y Metodología de la investigación clínica-básica.
- Participar en el desarrollo de ensayos clínicos.

Conocimiento de idiomas

El conocimiento del inglés científico es una adquisición altamente recomendable en el transcurso de la residencia, y se irá realizando escalonadamente:

1. Lectura de inglés científico.
2. Escritura de comunicaciones y trabajos en inglés.
3. Presentaciones orales en inglés en reuniones científicas.

Metodología de la evaluación

Evaluación de recursos

Se evaluará el nivel de utilización de los recursos del Servicio acreditado.

Evaluación del proceso docente

Se evaluará el cumplimiento de las actividades señaladas en el proceso de formación, tanto en calidad como en cantidad, a través de los informes de los responsables docentes y de los tutores del Servicio.

Evaluación de los resultados

Se evaluará el cumplimiento de los objetivos específicos-operativos previstos en el programa docente, tanto desde el punto de vista cognoscitivo como de habilidades prácticas y aptitudes con los pacientes. Para ello, se modificarán las actuales evaluaciones anuales y se trabajará en la elaboración de un libro del residente. Este libro será elaborado por la Comisión Nacional de la Especialidad.

Evaluación final del residente

Se pondrá en marcha la evaluación final voluntaria.

Además de los cuatro puntos anteriores, esta Comisión propone que al finalizar el período formativo se redacte un informe final elaborado por el Jefe de Servicio, el tutor y por un tercer miembro del Servicio elegido por votación entre todos los miembros de la plantilla del mismo, en el que consten los siguientes aspectos:

- Aprendizaje del contenido del programa de la especialidad
- Progresión en las habilidades y actitudes.
- Capacidad de trabajo en equipo e integración en el mismo.
- Participación en actividades científicas y de investigación.

Dicho informe sería enviado y archivado en la Comisión Nacional de la Especialidad, y estaría a disposición de quien lo solicitara.

FORMACIÓN EN INVESTIGACIÓN

La misión de todo especialista es el ejercicio de ésta con arreglo a los criterios de las buenas prácticas clínicas y de las buenas prácticas científicas, ambas orientadas al desarrollo y al progreso de esta área de conocimientos.

Es difícil aceptar que una buena formación asistencial pueda desarrollarse en un Servicio que no desarrolla una aceptable formación investigadora[7]. No publicar significa no hacerse preguntas, ser defectuoso en la recogida adecuada de los datos clínicos, no realizar proyectos de investigación, no solicitar ayudas competitivas y no saber interpretar y publicar el trabajo realizado. Es muy difícil crear estímulo y motivación en estas circunstancias e incluso es difícil hacer una buena asistencia[11].

Un médico en formación como especialista en Hematología no puede solicitar una ayuda de investigación a la que dedique un mínimo de 8 horas/día. Sin embargo, sería necesario que se introdujese en algún proyecto de investigación de su

servicio para comprender y tener luego la posibilidad de desarrollar diversos aspectos: cómo se debe formar un investigador, cómo se escribe y se discute un proyecto científico, y cómo se redacta un trabajo que tiene como objetivo su publicación.

Lo importante y necesario es introducirse en la metodología científica, comprenderla, sentir el estímulo de avanzar en el conocimiento y entender que la investigación y la clínica se potencian.

BIBLIOGRAFÍA

1. García-Conde J. Enseñanza pregrado y posgrado de la Hematología. Hematología XXXIX Reunión Nacional de la AEHH y XIII Congreso de la SETH. 1997; 82 (Supl 1):319-327.
2. Morin E. Los siete saberes necesarios para la educación del futuro. Ed. Pardos, 2001.
3. Cortina A. El mundo de los valores, ética y educación. Ed. Buho Ltda., 1997.
4. Ortega y Gasset J. Misión de la Universidad. Madrid: Alianza Ed., 1992.
5. Cortina A. Ciudadanos del mundo. Hacia una teoría de la ciudadanía. Madrid: Alianza Ed., 1997.
6. Kant I. Entorno al tópico. En: Teoría y Praxis. Madrid: Tecnos, 1986.
7. Gracia D. La ética y las profesiones sanitarias. En: Como arqueros al blanco. Tella Madrid: Ed. Triacas, 2004.
8. Todd RF. A guide to planning careers in Hematology and Oncology. American Society of Hematology Education Program Book, 2001; 499-506.
9. Guía de formación de Especialistas. Hematología y Hemoterapia. Programa elaborado por la CNE el 25 de abril de 1996.
10. García-Conde J. Metodología de la investigación clínica. Madrid: Ars Médica Ed., 2003.
11. García-Conde J. Lugar y papel del MIR en la investigación (clínica básica y aplicada). Sistema MIR en Oncología Médica. Situación actual y propuesta de futuro. Barcelona: Prous Science, 2002.
12. García-Conde J. La enseñanza de la Oncología Médica en los estudios de medicina. Rev Clin Esp 1987; 180:349-351.

ANEXO 1

Medicamentos que pueden producir leucopenia
(Septiembre 2004)

A. APARATO DIGESTIVO Y METABOLISMO
Cimetidina
Ciproheptadina
Clorpropamida
Dantrón
Famotidina
Glibenclamida
Glipicida
Metaclopramida
Mesalazina
Monoctanoína
Omeprazol
Ranitidina
Sulfasalazina
Tolbutamida

B. SANGRE Y ÓRGANOS HEMATOPOYÉTICOS
Clofibrato
Gemfibrozilo
Fenindiona
Ticlopidina
Warfarina

C. APARATO CARDIOVASCULAR
Acetazolamida
Bendroflumetazida
Cibenzolina
Clortalidona
Diazóxido
Diclofenamida
Diltiazem
Doxazosina
Flecainida
Furosemida
Guanetidina
Hidralazina
Hidroclorotiazida
Indapamida
Labetalol
Lovastatina
Metildopa
Metolazona
Mexiletina
Minoxidilo
Nifedipina
Pentoxifilina
Pravastatina
Prazosina
Reserpina + tiazidas
Tolazolina

D. TERAPIA DERMATOLÓGICA
Azaribina
Etretinato
Isotretinoína
Podofilotoxina
Sulfadiazina plata
Tripenelamina

G. TERAPIA GENITOURINARIA
Danazol
Flavoxato

H. TERAPIA HORMONAL
Carbimazol
Perclorato potásico
Propiltiouracilo

I. TERAPIA ANTIINFECCIOSA
Amantadina
Amoxicilina
Ampicilina
Anfotericina B
Azlocilina
Bacampicilina
Bencilpenicilina
Capreomicina
Carbenicilina
Cefaclor
Cefalexina
Cefixima
Cefmenoxima
Cefotaxima
Cefoxitina
Cefradina
Ceftazidima
Ceftizoxima
Ceftriaxona
Cefuroxima axetilo
Ciprofloxacino
Clavulánico, ácido
Clindamicina
Cloranfenicol
Cotrimoxazol
Didanosina
Espiramicina
Etambutol
Fusídico, ácido
Fluconazol
Flucitosina
Ganciclovir
Gentamicina
Griseofulvina
Imipenem/Cilastatina
Inmunoglobulinas intravenosas
Itraconazol
Ketoconazol
Lincomicina
Metronidazol
Nalidíxico
Netilmicina
Nitrofurantoína
Norfloxacino
Novobiocina
Ofloxacino
Pefloxacino
Piperacilina
Rifampicina
Sulfametizol
Sulfametoxazol
Sulfisoxazol
Sultamicilina
Teicoplanina
Tiabendazol
Ticarcilina
Tobramicina
Trimetoprima
Valaciclovir
Zidovudina

J. TERAPIA ANTINEOPLÁSICA Y AGENTES INMUNOMODULADORES
Aclarubicina
Altretamina
Aminoglutetimida

Asparaginasa
Azatioprina
Bexaroteno
Busulfano
Carboplatino
Ciclofosfamida
Ciclosporina
Cisplatino
Citarabina
Dacarbazina
Diazicuona
Docetaxel
Doxorubicina
Drolofixeno
Epirubicina
Etopósido
Estramustina
Fluorouracilo
Formestano
Gemcitabina
Idarubicina
Ifosfamida
Irinotecan
Interferón alfa 2A
Interleucina 2
Leuprolida
Mecloretamina
Mercaptopurina
Metotrexato
Micofenolato mofetilo
Mitomicina
Pegaspargasa
Pipobriman
Plicamicina
Procarbazina
Sargramostim
Talidomida
Tamoxifeno
Tiotepa
Toremifeno
Vinblastina
Vincristina

M. SISTEMA MUSCULOESQUELÉTICO
Aceclofenaco
Alopurinol
Auranofina
Bifosfonatos
Carisoprodol
Ciclobenzaprina
Clodronico
Colchicina
Diclofenaco
Fenilbutazona
Flurbiprofeno
Indometacina
Meclofenamino
Mefenámico
Naproxeno
Pamidronato
Probenecid
Sulindaco

N. SISTEMA NERVIOSO
Acetilsalicílico, ácido
Amitriptilina
Amitriptilina + Perfenazina
Amoxapina
Azapropazona
Beclamida
Bromocriptina
Bupropión
Buspirona
Carbamazepina
Carbidopa + Levodopa
Clonazepam
Clorpromazina
Clovoxamina
Diflunisal
Doxapram
Doxepina
Etosuximida
Fenelzina
Fenitoína
Flufenazina
Fluoxetina
Flurazepam
Gabapentina
Gabexato
Haloperidol
Lamotrigina
Levodopa
Loxapina
Mianserina
Mefenámico
Meprobamato
Metilfenidato
Molindona
Olanzapina
Oxazepam
Paracetamol
Pentazocina
Perfenazina
Pergolida
Pipotiazina
Risperidona
Tioridazina
Tiotixeno
Tranilcipromina
Trifluoperazina
Valproico, ácido

P. ANTIPARASITARIOS
Albendazol
Antimoniato meglumina
Bitionol
Eflornitina
Estibogluconato sódico
Fumagilina
Halofantrina
Levamisol
Mefloquina
Pentamidina
Pirimetamina
Pirimetamina/Sulfadoxina
Primaquina
Tiabendazol

R. APARATO RESPIRATORIO
Alimemazina
Fexofenadiona
Metodilazina

V. VARIOS
Metirapona
Penicilamina
Protamina
Sincalida
Tiopronina

GRUPOS EN GENERAL
Antihistamínicos H_1
Antineoplásicos
Asociación antigripal + Vasoconstrictor + Antihistamínico
Inmunoglobulinas antitimocíticas
Inmunosupresores
Expansores del plasma

- Clasificación ATC (anatómica-terapéutica-química de medicamentos) recomendada internacionalmente por el Drug Utilization Research Group (DURG) de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y vigente en España según el Real Decreto 1348/2003, de 31 de octubre, por el que se adapta la clasificación anatómica de medicamentos al sistema de clasificación ATC.

- Nombre de los medicamentos según Denominación Oficial Española (DOE) de las Sustancias Medicinales, 1.ª ed. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo, 2000.

- La letra cursiva indica grupos de medicamentos sobre los que está publicado que pueden producir leucopenia; dentro de cada grupo pueden quedar especificados aquellos medicamentos que presentan mayor incidencia (p. ej., *antineoplásicos* y etopósido).

ANEXO **2**

Medicamentos que pueden producir agranulocitosis
(Septiembre 2004)

A. APARATO DIGESTIVO Y METABOLISMO
Anfepramona
Cabutamida
Ciclizina
Cimetidina
Ciproheptadina
Clorpropamida
Famotidina
Glibenclamida
Glipizida
Mesalazina
Metoclopramida
Omeprazol
Pirenzepina
Ranitidina
Sulfasalazina
Sulfonilureas
Tietilperazina
Tolbutamida

B. SANGRE Y ÓRGANOS HEMATOPOYÉTICOS
Clofibrato
Dicumarol
Fenindiona
Ticlopidina

C. APARATO CARDIOVASCULAR
Acebutolol
Acetazolamida
Ajmalina
Aprindina
Atenolol
Bendroflumetiazida
Betaxolol
Betabloqueantes
Captopril
Carteolol
Ciclotiazida
Clortalidona
Diclofenamida
Digitálicos
Diltiazem
Disopiramida
Dobesilato cálcico
Enalapril
Espironolactona
Etacrínico, ácido
Furosemida
Hidralazina
Hidroclorotiazida
IECA
Indapamida
Labetalol
Metazolamida
Metildopa
Metolazona
Metoprolol
Mexiletina
Nadolol
Nifedipina
Penbutolol
Pindolol
Procainamida
Propranolol
Quinapril
Quinidina
Reserpina
Tiazidas
Timolol
Tocainida
Triamtereno
Triclormetiazida

D. TERAPIA DERMATOLÓGICA
Isotetrinoína
Sulfadiazina plata
Terbinafina

G. TERAPIA GENITOURINARIA
Furazolidona
Nitrofurantoína
Ritodrina

H. TERAPIA HORMONAL
Antitiroideos
Carbimazol
Hidrocortisona
Perclorato potásico
Propiltiouracilo
Tiamazol

I. TERAPIA ANTIINFECCIOSA
Albendazol
Aminosalicílico, ácido
Amoxicilina
Ampicilina
Amoxicilina/Clavulánico
Anfotericina B
Bacampicilina
Bencilpenicilina
Betalactámicos
Carbenicilina
Cefalexina
Cefalotina
Cefmetazol
Cefotaxima
Ceftazidima
Cefuroxima axetilo
Ciprofloxacino
Clindamicina
Cloranfenicol
Cloxacilina
Cotrimazina
Cotrimoxazol
Dapsona
Doxiciclina
Eritromicina
Estreptomicina
Fenoximetilpenicilina
Flucitosina
Fusídico, ácido
Ganciclovir
Gentamicina
Griseofulvina
Imipenem/Cilastatina
Isoniazida
Lincomicina
Metronidazol
Nafcilina
Novobiocina
Ofloxacino
Oxacilina
Rifampicina
Sulfametizol
Sulfametoxazol
Sulfamidas
Sulfapiridina

Sultamicilina
Tetraciclina
Tioacetazona
Vancomicina
Zidovudina

L. TERAPIA ANTINEOPLÁSICA Y AGENTES INMUNOMODULADORES
Aminoglutetimida
Citarabina
Fluorouracilo
Tamoxifeno

M. SISTEMA MUSCULOESQUELÉTICO
AINE
Alopurinol
Auranofina
Bumadizona
Colchicina
Diclofenaco
Fenilbutazona
Fenoprofeno
Indometacina
Ketoprofeno
Meclofenámico, ácido
Naproxeno
Niflúmico, ácido
Piroxicam
Sales de oro
Sulindaco
Tolmetina

N. SISTEMA NERVIOSO
Acetilsalicílico, ácido
Aminofenazona
Amitriptilina
Amoxapina
Benzodiazepinas
Butalbital
Carbamazepina
Carbidopa/Levodopa
Clomipramina
Clordiazepóxido
Clorpromazina
Clozapina
Desipramina
Diazepam
Diflunisal
Doxepina
Etosuximida
Fenazona
Fenitoína
Fenobarbital
Fenotiazinas
Flufenazina
Fosfenitoína
Haloperidol
Ibuprofeno
Imipramina
Levodopa
Levomepromazina
Loxapina
Maprotilina
Mefenámico, ácido
Mefenitoína
Meprobamato
Metacualona
Metamizol
Metildopa
Mianserina
Mirtazapina
Molindona
Nortriptilina
Olanzapina
Oxazepam
Paracetamol
Pentazocina
Perazina
Perfenazina
Petidina
Piritildiona
Piritinol
Primidona
Propifenazona
Risperidona
Tacrina
Tioridazina
Tranilcipromina
Trazodona
Trifluoperazina
Trimetadiona
Trimipramina
Valproico, ácido
Venlafaxina

P. ANTIPARASITARIOS
Amodiaquina
Antipalúdicos
Cloroquina
Hidroxicloroquina
Levamisol
Mefloquina
Pirimetamina
Primaquina
Quinina
Suramina

R. APARATO RESPIRATORIO
Alimemazina
Azatidina
Bromfeniramina
Ciclizina
Clemastina
Clorfenamina
Dexclorfeniramina
Difenhidramina
Metodilazina
Prometazina
Tenalidina
Tripenelamina

S. ÓRGANOS DE LOS SENTIDOS
Sulfacetamida

V. VARIOS
Deferiprona
Penicilamina
Tiopronina

GRUPOS EN GENERAL
Antihistamínicos H_1
Ansiolíticos
Antipsicóticos
Hipnóticos
Sedantes
Insecticidas clorados

- Clasificación ATC (anatómica-terapéutica-química de medicamentos) recomendada internacionalmente por el Drug Utilization Research Group (DURG) de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y vigente en España según el Real Decreto 1348/2003, de 31 de octubre, por el que se adapta la clasificación anatómica de medicamentos al sistema de clasificación ATC.

- Nombre de los medicamentos según Denominación Oficial Española (DOE) de las Sustancias Medicinales, 1.ª ed. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo, 2000.

- La letra cursiva indica grupos de medicamentos sobre los que está publicado que pueden producir agranulocitosis; dentro de cada grupo pueden quedar especificados aquellos medicamentos que presentan mayor incidencia (p. ej., *AINE* y fenilbutazona).